

Aus der Klinik für Allgemeine, Unfall- und Wiederherstellungschirurgie,
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand Prof. Dr. Wolfgang Böcker

**Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan bei
polytraumatisierten Patienten in der frühen posttraumatischen Phase**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Kathrin Frey

aus

Amberg

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. Viktoria Bogner-Flatz

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Hans Hertlein
Prof. Dr. Christian Schinkel

Mitbetreuung durch den

Promovierten Mitarbeiter: Dr. Thomas Kusmenkov

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 18.02.2021

Meiner Familie in Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Hintergrund.....	1
1.1	Polytrauma	1
1.2	SIRS/Sepsis & MOF	3
1.3	Glykokalix.....	8
1.3.1	Allgemeiner Aufbau und physiologische Funktionen	8
1.3.2	Syndecan-1.....	9
1.3.3	Hyaluronan	11
1.4	Pathophysiologie der Glykokalix.....	12
2	Fragestellung und Zielsetzung.....	15
3	Patienten und Methoden	17
3.1	Studiendesign.....	17
3.1.1	Patientenkollektiv.....	17
3.1.2	Injury Severity Score (ISS)	17
3.1.3	Multiple Organ Failure (MOF).....	18
3.1.4	Outcome	19
3.1.5	Gerinnung.....	19
3.1.6	Massentransfusion.....	20
3.2	Studiendurchführung.....	21
3.3	Nachweismethoden für Syndecan-1 und Hyaluronan.....	21
3.3.1	Sandwich-ELISA für den Nachweis von Syndecan-1	21
3.3.2	Kompetitiver ELISA für den Nachweis von Hyaluronan.....	22

4	Ergebnisse	23
4.1	Patienten	23
4.1.1	Klinische Daten	23
4.1.2	Epidemiologische Daten.....	25
4.2	Syndecan-1	27
4.2.1	Serumkonzentration von Syndecan-1	27
4.2.2	Syndecan-1 und Überleben.....	29
4.2.3	Syndecan-1 und ISS.....	30
4.2.4	Syndecan-1 und maximaler MOF.....	31
4.2.5	Syndecan und Gerinnung.....	32
4.2.6	Syndecan und Massentransfusion.....	33
4.3	Hyaluronan.....	34
4.3.1	Serumkonzentration von Hyaluronan.....	34
4.3.2	Hyaluronan und Überleben.....	36
4.3.3	Hyaluronan und ISS.....	37
4.3.4	Hyaluronan und maximaler MOF	38
4.3.5	Hyaluronan und Gerinnung	39
4.3.6	Hyaluronan und Massentransfusion	40
5	Diskussion	41
5.1	Studiendesign und Methodik	43
5.1.1	Patientenkollektiv.....	43
5.1.2	Zeitpunkt der Blutentnahme	43
5.1.3	Einfluss von Operation und Bluttransfusionen	44

5.1.4	Messung der Serumkonzentration mittels ELISA.....	45
5.2	ISS- & MOF-Score	46
5.3	Korrelation der Serumkonzentrationen	47
5.3.1	Korrelation der Serumkonzentrationen von Syndecan-1 mit klinischen Parametern 49	
5.3.2	Korrelation der Serumkonzentrationen von Hyaluronan mit klinischen Parametern 50	
5.4	Ausblick und Therapieansätze	52
6	Zusammenfassung	54
7	Literatur	58
8	Danksagung.....	73
9	Eidesstattliche Erklärung.....	74

1 Einleitung und Hintergrund

1.1 Polytrauma

Im Jahr 2016 sind nach Recherchen der WHO 1,35 Millionen Menschen weltweit an den Folgen eines Verkehrsunfalls gestorben. Die Zahl scheint auf den ersten Blick stabil zu bleiben; setzt man sie jedoch in Relation zur steigenden Weltbevölkerung und der Kraftfahrzeugdichte, ist das Ziel, die Zahl der Verkehrstoten bis 2020 um 50% zu reduzieren, in weiter Ferne [1]. Unfälle sind weltweit die häufigste Todesursache im Alter zwischen fünf und 29 Jahren [1], in Deutschland sogar bei Personen bis 40 Jahren [2–4]. Ursächlich für das Versterben sind Verletzungen von Körperregionen bzw. Organsystemen, die an sich oder in ihrer Kombination lebensbedrohlich oder tödlich sind. Dies entspricht der allgemeinen Definition von „Polytrauma“ [5, 6]. Um die Schwere der Verletzungen zu skalieren und eine Prognose abgeben zu können, wurden im Laufe der Zeit diverse Scoring-Systeme etabliert. Nach Butcher et al. wird ein Polytrauma wie folgt definiert: ein Abbreviated Injury Scale (AIS) ≥ 3 in mindestens zwei verschiedenen Körperregionen [6]. In vielen klinischen Studien wird auch der Injury Severity Score (ISS) als Selektionskriterium für das Polytrauma verwendet. Der hierbei minimal geforderte Punktwert bzw. die Punkteverteilung nach Verletzungsmuster ist nicht einheitlich festgelegt und wird als ≥ 16 Punkte angegeben [7, 8]. Ein weiterer Ansatz zur Definition des Polytraumas ist ein AIS > 2 in mindestens zwei Körperregionen [9, 10]. Im Rahmen der Weiterentwicklung des AIS im Jahr 2005 und 2008 wurden Kategorien erweitert und verbessert [11, 12]. Trotz allem fehlt eine einheitliche Definition für das Polytrauma [13]. 2014 legten Pape et al. konsensuell neue Kriterien fest. Diese fordern einen AIS ≥ 3 in zwei oder mehr Körperregionen mit einer oder mehreren zusätzlichen Variablen bzw. pathologischen Veränderungen. Diese Variablen sind beispielsweise ein Alter > 70 Jahre, Bewusstseinsstörungen mit einem Glasgow Coma Scale (GCS) ≤ 8 , die Hypotension mit einem systolischen Blutdruckwert ≤ 90 mmHg, einer Azidose mit einem Base Excess $\leq -6,0$ und einer Koagulopathie mit einer PTT ≥ 40 Sekunden bzw. einem INR $\geq 1,4$ [14]. Dieser Konsens entspricht der sogenannten „New Berlin Definition“ des Polytraumas [15].

Aus wissenschaftlicher Perspektive ist neben einer einheitlichen Definition die standardisierte Dokumentation der Versorgung sowie des Outcomes eines Schwerverletzten unerlässlich. Das TraumaRegister DGU® dient der anonymisierten und standardisierten Dokumentation von Schwerverletzten [6]. Die Zahlen über polytraumatisierte Patienten (Verletzungsschwere, Outcome, klinische Versorgung) dienen als Indikatoren für die Qualität der Schockraumversorgung zur ständigen Weiterentwicklung und der externen Qualitätssicherung [3, 16–19, 20]. So ist das Schicksal der Schwerverletzten laut Auswertung des TraumaRegister DGU® aus 2010 (Hilbert et al.) abhängig von der versorgenden Klinik [21]. Des Weiteren wurde der Verkehrsunfall mit 56,7% als die häufigste Unfallursache bei 2069 Patienten des TraumaRegister DGU® (Alter 38,5 +/-18,7 Jahre, ISS 22,2 +/-13,1) identifiziert [2]. So haben ältere Patienten (> 65 Jahre) ein erhöhtes Mortalitätsrisiko nach Trauma [22]. Die Ursachen der Mortalität bei Polytrauma sind in drei Zeitgruppen aufgeteilt:

- 1. Tod am Unfallort bzw. innerhalb der ersten Stunde durch die direkten Verletzungsfolgen,
- 2. Tod innerhalb der ersten 24 Stunden durch Hypoxie, Hypovolämie oder schweres Schädelhirntrauma,
- 3. Tod durch Systemic Inflammation Reaction Syndrome (SIRS), Multi Organ Dysfunction Syndrome (MODS) bzw. Multi Organ Failure (MOF) bei Funktionsstörung des Immunsystems [23].

In diese Zeitgruppen gliedert sich die sogenannte „Two-Hit“-Theorie ein. Das Versterben der Patienten in den ersten 24 bis 48 Stunden nach Trauma ist auf die Verletzungsschwere und -art zurückzuführen, der Tod sieben und mehr Tage nach dem Unfall auf ein Multiorganversagen im Rahmen einer überschießenden Immunreaktion [24].

Die Aktivierung einer systemischen Entzündungsreaktion wird durch das Trauma selbst sowie durch die verursachten Verletzungen bzw. Frakturen mit entsprechender Gewebeverletzung initiiert, ein Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) ist meist die Folge.

Das Immunsystem wird durch das Trauma getriggert und zeigt im weiteren Verlauf beim Auftreten erneuter Stimuli, wie beispielsweise einer Hypoxie, Infektionen oder Gewebeuntergang im Rahmen von Operationen, die bereits beschriebene überschießende Reaktion mit signifikant erhöhter Ausschüttung von Immunstimulatoren wie dem Tumor-Nekrose-Faktor α [24, 25].

1.2 SIRS/Sepsis & MOF

Die systemische Entzündungsreaktion ist im Verlauf eines Polytraumas zu beobachten und gipfelt nicht selten aufgrund einer zusätzlichen Infektion in einer Sepsis und einem Multiorganversagen [26].

1985 wurde die Sepsis noch nach den Kriterien Fieber über 39°C, Leukozytose oder Leukopenie, Hypofibrinogenämie und einer positiven Blutkultur definiert [27]. Im Laufe der Zeit haben sich die Begrifflichkeiten und deren Definition an den aktuellen Stand der Forschungen angepasst. Von einem Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) spricht man bei einer Herzfrequenz > 90/min, einer Atemfrequenz > 20/min, einer Körpertemperatur von > 38°C oder < 36°C, Leukozyten > 12.000/ μ l oder < 4.000/ μ l oder Neutrophilen > 10%. Wird bei einem SIRS zusätzlich eine bakterielle Infektion festgestellt, spricht man von einer Sepsis [25, 28]. Eine schwere Sepsis existiert nach der neuen Sepsis-3-Definition aus dem Jahr 2016 nicht mehr [29]. Bei einem Multi Organ Dysfunction Syndrome (MODS), welches häufig synonym zum Multi Organ Failure (MOF) verwendet wird, kann die Hämostase aufgrund des Versagens von zwei oder mehreren Organen nicht aufrechterhalten werden [26, 30–32]. In einer Studie von Knaus et al. 1992 zur Definition von Sepsis mit 519 Patienten zeigte sich eine Mortalität von 48% [33].

Hier wurde der APACHE III-Score unter Berücksichtigung vielseitiger Parameter zur Abschätzung des Outcomes verwendet. Dieser Score wurde 1981 von Knaus et. al zur Einschätzung der Erkrankungsschwere und des Outcomes bei Intensivpatienten entwickelt und in den darauffolgenden Jahren stetig überarbeitet. Er berücksichtigt neben einer Vielzahl von Labor- und Vitalparametern auch das Alter und den Gesundheitszustand vor der akuten Erkrankung. Im Rahmen der Weiterentwicklung ist ein Abgleich mit anderen Fällen möglich [34, 35].

Bei einer Verschlechterung einer Sepsis ist das Multiorganversagen die führende Todesursache und Grund der Morbidität, hier ist die körpereigene Immunantwort (v.a. IL-6 & HLA-DR) entscheidend [36].

Diese Immunantwort gliedert sich nach dem Trauma ebenso wie bei anderen Krankheitsbildern in verschiedene Phasen. Initial kommt es zu einer Aktivierung mit Rekrutierung von Leukozyten, vor allem von neutrophilen Granulozyten. Bei einer fehlenden Heilung folgt aufgrund einer Dysregulation bzw. Hyperaktivierung eine generalisierte Entzündungsreaktion mit Endothelschädigung. Hier spricht man von einem frühen MOF. Darauf folgend wird das Immunsystem supprimiert und es zeigt sich ein spätes MOF mit einer möglichen Infektion aufgrund der fehlenden Abwehrreaktion [23, 37, 38].

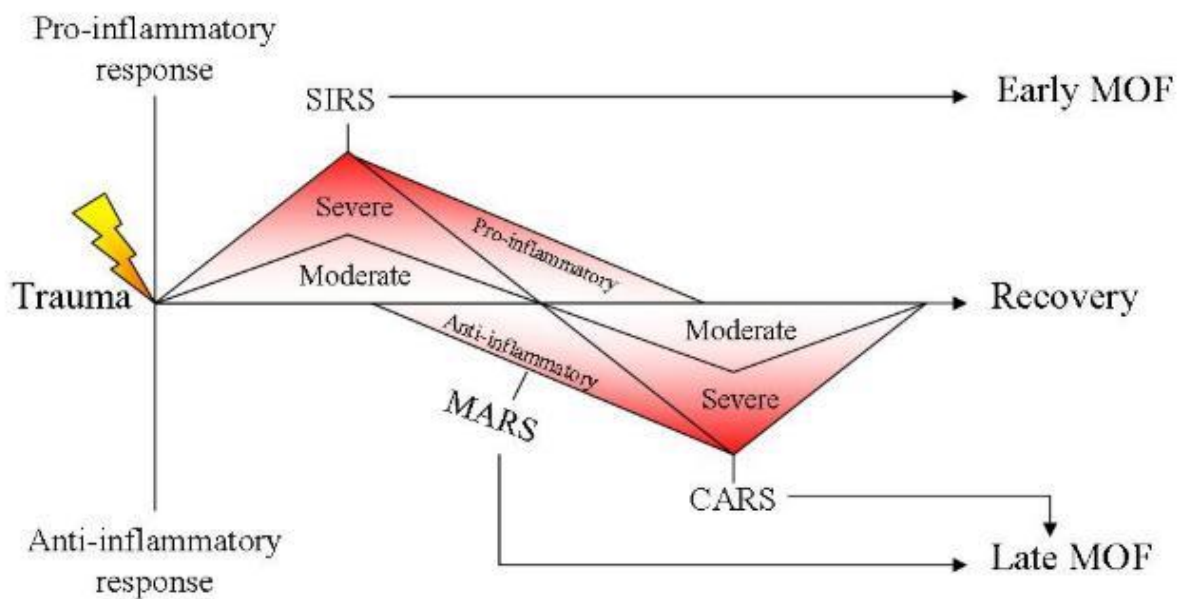


Abbildung 1: Posttraumatische Immunreaktion nach Hietbrink et al. [38]

In anderen Definitionen findet das frühe MOF innerhalb der ersten drei Tage statt, das späte MOF im Anschluss an diese Zeitspanne. Das Multi Organ Dysfunction Syndrome (MODS) zeigt sich dagegen oft innerhalb der ersten 48 Stunden nach Trauma oder im späteren Verlauf und beginnt mit einer Einschränkung der kardiopulmonalen Funktionen [30]. In vielen Fällen entwickelt sich nach diesem Zeitraum ein Compensatory Anti-inflammatory Syndrome (CARS) im Sinne der bereits beschriebenen Immunsuppression als Antwort auf das SIRS. Die Gefahr einer folgenden bakteriellen Infektion mit einem MOF ist aufgrund dessen gegeben [37].

Eine der ersten Definitionen eines MOF nach Knaus et al. aus dem Jahr 1985 beinhaltet verschiedene, nach Organsystemen kategorisierte Parameter:

- Kardiovaskulär: Herzfrequenz ≤ 54 bpm, MAP ≤ 49 mmHg, ventrikuläre Tachykardie/Kammerflimmern, Serum-pH $\leq 7,24$ mit PaCO₂ ≤ 49 mmHg
- Respiratorisch: Atemfrequenz ≤ 5 /min oder ≥ 49 /min, PaCO₂ ≥ 50 mmHg, AaDo₂ ≥ 350 mmHg, mechanische Beatmung ≥ 3 Tage
- Renal: Urinmenge ≤ 470 ml/24h, Harnstoff-Stickstoff im Serum ≥ 100 mg/100ml, Kreatinin im Serum $\geq 3,5$ /100ml
- Hämatologisch: Leukozyten ≤ 1000 mm³, Thrombozyten ≤ 20.000 mm³, Hämatokrit $\leq 20\%$
- Neurologisch: Glasgow Coma Scale (GCS) ≤ 6 Punkte [39].

Die MOF-Definition nach Goris et al. aus dem Jahr 1985 umfasst sieben Organsysteme, neben den oben genannten zusätzlich noch das gastrointestinale System und die Leberfunktion. Die schwere Funktionseinschränkung eines Organsystems wird mit zwei Punkten bewertet, eine mäßige Funktionseinschränkung mit einem Punkt und eine normale Organfunktion mit null Punkten. Ein Cut-off zur eindeutigen Definition wird nicht angegeben [40].

In dieser Arbeit wurde der MOF-Score nach Goris et al. modifiziert nach Lefering et al. verwendet.

Ein vorliegendes MOF ist ab einem Punktwert von 6 definiert [41].

	normale Organfunktion = 0 Punkte	mäßige Funktionseinschränkung = 1 Punkt	schwere Funktionseinschränkung = 2 Punkte
Lunge	keine künstliche Beatmung	Beatmung mit PEEP ≤ 10 & FiO ₂ $\leq 0,4$	Beatmung mit PEEP > 10 oder FiO ₂ $> 0,4$
Herz	normaler systolischer Blutdruck	RR _{syst} ≥ 100 mmHg mit niedrig dosierten Katecholaminen	RR _{syst} < 100 mmHg und/oder hohe Katecholamindosen
Niere	Kreatinin < 2 mg/dl	Kreatinin ≥ 2 mg/dl	Hämofiltration oder Peritonealdialyse
Leber	GOT & Bilirubin normwertig	GOT ≥ 25 U/l Bilirubin ≥ 2 mg/dl	GOT ≥ 50 U/l Bilirubin ≥ 6 mg/dl
Blut	normale Werte	Leukozyten ≥ 30.000 Thrombozyten ≤ 50.000	Leukozyten ≥ 60.000 oder ≤ 2.500
Gastrointestinal	Normal	Stressulcus, akalkulöse Cholezystitis	Ulcerblutung, nekrotisierende Enterokolitis oder Pankreatitis, Gallenblasenperforation
Zentrales Nervensystem	Normal	verminderte Reaktionsfähigkeit	Schwere Bewusstseinsstörung, diffuse Neuropathie

Das MOF stellt bei 51% der Traumapatienten die Todesursache dar [42], insgesamt 33% der Patienten entwickeln ein MOF nach Trauma. Bei sinkender Mortalität zeigt sich eine steigende Inzidenz [7]. Laut dem TraumaRegister DGU® 2017 entwickelten 20 % der Schwerverletzten ein MOF [4]. Geht ein SIRS in ein MODS oder MOF über, erhöht sich die Mortalität auf 30 – 80% je nach Anzahl der versagenden Organe [43, 44]. In einer Studie von Dewar et al. konnten zudem weitere Risikofaktoren für die Entwicklung eines MOF identifiziert werden. Zum einen sind die individuellen Patientenvoraussetzungen mit Alter, Geschlecht und Vorerkrankungen entscheidend, zum anderen das Ausmaß der Gewebeschädigung und das Vorliegen der „Schockzeichen“, die den MOF-Kriterien sehr ähnlich sind. Hier ist der systolische Blutdruck bei Ankunft im Schockraum der Notfallaufnahme von Bedeutung sowie die Anzahl der transfundierten Erythrozytenkonzentraten (EK), ein Basendefizit bzw. eine Azidose und die Laktatkonzentration entscheidend [7, 37].

Die septischen Komplikationen sind eine der Hauptursachen (45%) für das später Versterben nach Polytrauma, wobei bisher noch kein idealer Diagnoseparameter identifiziert werden konnte [45]. Vor allem zur Abschätzung der Verlaufs einer Sepsis bzw. der Entwicklung eines MODS/MOF gibt es bisher noch keinen idealen Marker [46, 47]. In einer Studie von Kubli et al. mit acht Patienten mit einem septischen Schock wurde die Durchblutung der Haut gemessen. Es konnte festgestellt werden, dass die endothel-abhängige Vasodilatation der kleinen Gefäße im Rahmen der Sepsis intakt bleibt [48]. Insgesamt betrachtet ist veränderte Mikrozirkulation der Kapillaren und damit verminderte Sauerstoffversorgung von Gewebe und Organen derzeit ein starker Prädiktor für die Entwicklung eines Multiorganversagens und somit auch für das Outcome bei Sepsis [49]. Der entscheidende Mechanismus ist somit die Entkopplung zwischen der Mikro- und der Makrozirkulation, weshalb der Sauerstofftransport im Gewebe und somit an den Organen deutlich gestört ist [50].

Im Rahmen einer Entzündungsreaktion kommt es zu einer Schädigung des Endothels aufgrund von Degranulation der neutrophilen Granulozyten. Diese werden durch erhöhte Konzentrationen von TNF-alpha und anderen Zytokinen aktiviert, was ebenso zu Veränderungen in der Cellular-Adhesion-Molecule(CAM)-Expression führt und durch eine Induzierung der Koagulopathie die Entwicklung von SIRS und MODS begünstigt [51]. Die Koagulopathie wird hauptsächlich durch aktivierte Thrombozyten unterhalten, die über P-Selektin wiederum weitere Thrombozyten und über CD40-Liganden Leukozyten binden und somit auch als Verstärker der Entzündungsreaktion agieren [52]. Des Weiteren führt die verzögerte bzw. fehlende Apoptose der Neutrophilen bei Sepsis zu einer Aggravation der Entzündungsreaktion [53]. Zudem verlängert sich die Halbwertszeit von neutrophilen Granulozyten am Ort der Verletzung durch Interleukin-8 (IL-8) [54]. Eine Neutropenie und andere Immundefizite gehen dagegen mit einer erhöhten Mortalität der Sepsis einher [55]. Die initial ansteigenden Entzündungsmediatoren führen im Verlauf bei anhaltender Sepsis zu einem antiinflammatorischen, immunsuppressiven Status, der einem CARS entspricht [26, 56, 57]. Dies reguliert die post-inflammatorische Phase nach Trauma [54].

Bereits 1985 haben Goris et al. vermutet, dass eine Sepsis nicht die Ursache für ein MOF ist, sondern die Endothelschädigung und das damit einhergehende „Capillary Leak“ [27].

Die mikrovaskuläre Dysfunktion wird durch Leukozyten und Thrombozyten durch die Freisetzung von Superoxiden weiter verstärkt [58, 59]. Des Weiteren ist die endotheliale Dysfunktion Gegenstand aktueller Studien als neuer Ansatzpunkt für eine mögliche Therapie bei Sepsis & MOF [49].

1.3 Glykokalix

1.3.1 Allgemeiner Aufbau und physiologische Funktionen

Die Glykokalix stellt die Grenze zwischen der Gefäßwand und dem Blutfluss dar. Die Strukturelemente sind in der Zellwand der Endothelzellen verankert und bilden mit gebundenen Plasmaproteinen eine funktionelle Schicht mit vielerlei Aufgaben [60]. Diese dient der Regulation der vaskulären Permeabilität, der Verhinderung der Anheftung von Blutbestandteilen und der Übertragung von Scherkräften sowie Modulation von Entzündungsreaktionen. Die Schicht besteht aus einer Vielzahl von membrangebundenen Proteoglykanen und Glykoproteinen, die in einem Gleichgewicht von Synthese und Abbau, dem sogenannten Shedding stehen [61].

Die Proteoglykane Glypican, Osteoglycin & Syndecan haben einen transmembranären Anteil und sind zwischen 20 – 45 kDa groß. Es gibt vier Subtypen mit Bindungsstellen für 3-5 Heparan- oder Chondroitinsulfatketten. Die Glykosaminoglykane sind lineare Polymere aus Dissacchariden (D-Glucuronsäure, D-Galaktose, L-Iduronsäure) mit unterschiedlichen Längen. Diese werden durch Sulfatierung oder Acetylierung modifiziert und haben unter physiologischen Bedingungen eine negative Ladung. Die Glykosaminoglykane sind ebenso wie die Proteoglykane an ein Core-Protein gebunden. Hyaluronan stellt hier eine Ausnahme dar und ist das einzige Glykosaminoglykan, das nicht über ein Core-Protein verankert ist. Es ist entweder an die Zellmembran gebunden oder interagiert mit dem Zytoskelett via CD44. Des Weiteren sind Glukoproteine am Aufbau der Glykokalix beteiligt. Selektine, Integrine und andere stellen die Verbindung zwischen der Glykokalix und der Zellmembran dar. Zudem gibt es gelöste Komponenten im Sinne von diversen Proteinen und Proteoglykanen. Sie sind Teil von verschiedenen Reaktionen (Entzündung, Koagulation, Fibrinolyse, Hämostase) und besitzen eine vaskuloprotektive Funktion.

Weitere Plasmaproteine wie z. B. Albumin interagieren mit den Glykokalixbestandteilen und erhalten so den osmotischen Druck zwischen Blutgefäß und Endothel bzw. den Zellen aufrecht. Dieses Prinzip entspricht der Starling-Gleichung, die den effektiven Filtrationsdruck beschreibt [60].

Aufgrund der polyanionischen Struktur der Glykokalix besitzt diese eine negative Ladung. Die geschätzte Dicke des Endothel-Glykokalix-Komplexes beträgt mehr als 5 µm. Es gibt jedoch Unterschiede je nach Untersuchungstechnik (Elektronenmikroskop/Intravitalmikroskopie), die Glykokalix selbst ist weniger als 100 nm breit.

Die physiologischen Funktionen der Glykokalix bestehen in einer Barrierefunktion und somit der Regulation der vaskulären Permeabilität, die auch entscheidend durch die Endothelzellen, die durch tight junctions verbunden sind, beeinflusst wird [62]. Eine Schädigung der Glykokalix führt zu einer Ödembildung. Zudem verhindert die Glykokalix die Adhäsion von Leukozyten, da der Kontakt zu den Adhäsionsmolekülen verhindert wird. Im Rahmen der Mechanotransduktion werden über die Glykokalix mechanische Reize in biochemische Signale umgewandelt. So wird beispielsweise die NO-Produktion zur Veränderung des Gefäßtonus verändert. Eine weitere Funktion ist der Schutz der Endothelzellen vor oxidativem Stress. Dieser wird durch die Bindung von extrazellulärer Superoxid-Dismutase an Heparansulfat-Proteoglykane reduziert. Darüber hinaus wird die Blutgerinnung durch Bindung von Antithrombin III an die Glykokalix angepasst. Zudem werden Entzündungsreaktionen durch die Bindung von Zytokinen an die Glykokalix reguliert [63–72].

1.3.2 Syndecan-1

Syndecan-1 ist als transmembranöses, endotheliales Proteoglykan fester Bestandteil der Glykokalix. Es dient als etablierter Marker der endothelialen Verletzung und damit der Glykokalixschädigung [66, 73, 74–77]. Syndecan-1 hat eine Größe von 33 kDA und ist durch Tubulin, Dynamin und α -Aktinin mit dem Zytoskelett verbunden. Des Weiteren besitzt es drei Bindungsstellen für Glukosaminoglykane und zwei für Chondroitinsulfat [65].

In einer Studie von Johansson et al. mit 75 schwerverletzten Patienten zeigte sich eine Korrelation von erhöhtem Syndecan-1 und den erhöhten Konzentrationen von Katecholaminen, IL-6 und IL-10 sowie einer dreifach erhöhten Mortalität [74]. Zudem steht Syndecan-1 im Zusammenhang mit einer traumainduzierten Koagulopathie sowie einer überschießenden Entzündungsreaktion. Bei Serumkonzentrationen von Syndecan-1 > 135 ng/ml besteht ein erhöhtes Risiko für Nierenversagen (AKI), beatmungsassoziierte Pneumonien (VAP) und Lungenversagen (ALI). Zudem korreliert die Serumkonzentration mit einer erhöhten Mortalität unabhängig von der Verletzungsart [78]. Im Rahmen des septischen Schocks konnte in einer Studie von Neson et al. mit 18 Patienten gezeigt werden, dass die Serumkonzentrationen von Syndecan-1 signifikant höher als bei Kontrollpatienten und ebenso signifikant höher bei Nicht-Überlebenden waren [79]. Des Weiteren sind Syndecan-1 und Adrenalin mit der Mortalität und dem Herz-Kreislauf-Versagen bei STEMI-Patienten assoziiert [80]. Zudem zeigt sich eine Korrelation von Syndecan-1 mit Entzündungsmarkern (hauptsächlich IL-6) sowie Zelladhäsionsmolekülen (VCAM-1 = interzelluläres Adhäsionsmolekül und ICAM-1 = Gefäßadhäsionsmolekül). Eine Veränderung der Zelladhäsion geht mit dem Verlust der Filtrationsfunktion einher und führt somit zu einem „Capillary Leak“ [81–83].

In einer Studie von Savery et al. zeigte sich, dass Syndecan-1 kein essentieller Bestandteil der Glykokalix ist. Dies geschah mit Hilfe gentechnisch veränderter Knock-out-Mäuse, bei denen das Gen SDC1 für die Produktion von Syndecan-1 deaktiviert wurde. Die Glykokalix war etwas dünner, die Mäuse waren aber voll überlebensfähig. Ein Ausgleich durch andere Proteoglykane scheint möglich zu sein [84, 85]. Trotz allem ist Syndecan-1 ein wichtiger Modulator der Immunreaktion. Im Rahmen des Shedding wird Syndecan-1 bei Endothelverletzungen freigesetzt und zirkuliert dann frei im Blut. Das freigesetzte Syndecan-1 entfernt gebundene Chemokine und löst akkumulierte neutrophile Granulozyten auf. Im Rahmen einer Studie wurden SDC1-/-Mäuse Lipopolysaccharide verabreicht und eine signifikant erhöhte Mortalität im Vergleich zu Wildtypmäusen festgestellt. Eine Zugabe von Shedding-Inhibitoren führt zudem zu einem MOF [86]. Syndecan-1 ist also essentieller Regulator des Immunsystems. Dies zeigt auch eine Studie von Angsana et al., hier verursachen SDC-1-/- Makrophagen eine persistierende

Entzündungsreaktion [87]. Das Syndecan-1-Shedding schützt also den Organismus vor einer überschießenden Immunreaktion durch die Bindung von Chemokinen und die Entfernung von pro-inflammatorischen Mediatoren vom Endothel-Glykokalix-Komplex [85, 86].

1.3.3 Hyaluronan

Hyaluronan ist ein Glykosaminoglykan aus den Dissacchariden D-Glucuronsäure und N-Acetyl-D-Glucosamin mit einem Gewicht von 4000kDa. CD44 fungiert als Hauptrezeptor für Hyaluronan auf Zelloberflächen [72], dieser Komplex induziert Entzündungsreaktionen. Die membrangebundenen Synthasen HAS 1-3 synthetisieren Hyaluronan, deren Expression über Wachstumsfaktoren und Zytokine reguliert wird, beispielsweise durch Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-alpha). Die Zersetzung erfolgt durch Hyaluronidasen, die die Bindungen spalten. Dies passiert in großem Umfang bei Lungenerkrankungen, Leber-, Nieren- und Gehirnverletzungen sowie Gewebeverletzungen. Die Hyaluronan-Bruchstücke akkumulieren dann zu sogenannten Damage-associated Molecular Patterns (DAMPs), die wiederum eine unaufhörliche Entzündungsreaktion aufgrund einer vermehrten Expression von Entzündungsmediatoren auf Makrophagen verursachen [88]. Die Aufspaltung von Hyaluronan mit hohem Molekulargewicht durch Hyaluronidasen, induziert durch Erkrankungen, wie beispielsweise Diabetes und Sepsis oder durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), bringt Hyaluronan mit niedrigem Molekulargewicht hervor, welches wiederum die Glykokalix schädigt [89]. Zudem ist Hyaluronan ein Immunmodulator vor allem über CD44, der wichtigsten Bindungsstelle, die auf T-Zellen exprimiert ist. Eine Bindung von Hyaluronan an CD44 bedingt die Migration und Adhäsion von neutrophilen Granulozyten [90, 91] und somit eine Entzündungsreaktion.

1.4 Pathophysiologie der Glykokalix

Die Glykokalix ist in viele wichtige Regulationsmechanismen im Körper eingebunden und somit durch den Kontakt zum Blutfluss vielen Einflüssen und Reizen ausgesetzt. Tritt an diesem wichtigen Regulator eine Funktionsstörung auf, hat dies weitreichende Folgen auf den ganzen Organismus.

Die Glykokalix unterliegt einem ständigen Auf- und Abbau im Rahmen eines physiologischen Gleichgewichts. Überwiegt der Abbau bzw. das Shedding der Glykokalix ist dies der Hauptfaktor der Pathophysiologie. Hier zeigt sich im Sinne eines „Abriebs“ ein Verlust von Glykokalixbestandteilen, vor allem von Heparansulfat- und Chondroitinsulfatketten, von Syndecan und deren Coreproteinen sowie vieler weiterer Komponenten. Es kommt zu Störungen der Homöostase, einerseits mit Ödembildung und vermehrter Leukozyteninteraktion und andererseits zu Schäden durch abgelöste Bestandteile, die als DAMPs wirken oder eine „Auto-Heparinisierung“ hervorrufen können [92]. Die Schädigung erfolgt durch reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies (ROS/RNS) sowie Proteasen, die von neutrophilen Granulozyten freigesetzt werden. Mastzellen, die durch TNF-alpha aktiviert werden, schädigen die Glykokalix durch die bereits zuvor erwähnten Heparanasen. Eine direkte Schädigung erfolgt durch Scherkräfte oder oxidiertes Low Density Lipoprotein (LDL) sowie durch Entzündungsmediatoren (z.B. TNF-alpha oder bakterielle Lipopolysaccharide)[64]. Die Folge der Glykokalixschädigung ist eine verstärkte Adhäsion von Leukozyten und eine gesteigerte Gefäßpermeabilität, welche in einem „Capillary Leak“ gipfelt. Zudem fungieren abgelöstes Hyaluronan und Heparansulfat wahrscheinlich als proinflammatorische Mediatoren [63]. In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass die Schwere einer Erkrankung mit dem Level freier Glykokalixkomponenten im Blut korreliert [63, 79, 79, 81]. Die Glykokalix kann auch durch Ischämie und Hypoxie geschädigt werden. Dies führt über die Freisetzung von Tryptase- β , einer Sheddase aus Mastzellen, und einer Ausschüttung von Syndecan-1 zu einer erhöhten Permeabilität [93, 94].

Die Defekte der Endothelfunktion gelten als Hauptproblem bei Schwerverletzten [92]. Die dadurch induzierte Dysregulation der NO-Synthese und eine massive Zytokinausschüttung

(z.B. TNF-alpha) kommen als Begleitreaktionen zu tragen [95]. Dieser Umstand schafft im Folgenden weitreichende Probleme, da Endothelverletzungen auch mit einer Hypokoagulabilität einhergehen. Die Fibrinolyse korreliert invers mit Syndecan-1-Leveln [96]. Zudem induziert die Schädigung der Glykokalix die Koagulation vor allem über Thrombin und eine gesteigerte Thrombozytenaggregation [97]. Die Freisetzung von Gerinnungsfaktoren aktiviert zudem das Immunsystem [83]. In einer Studie von Ostrowski et al. mit 77 Traumapatienten konnte gefolgert werden, dass die akute endogene Koagulopathie scheinbar auf die Glykokalixschädigung zurückzuführen ist [98].

Rahbar et al. konnten in einer Studie mit 22 schwerverletzten Patienten (mean ISS = 22) ebenfalls einen Einfluss auf die Koagulation zeigen. Die Syndecan-1- und Hyaluronan-Messungen erfolgten via Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), wobei erhöhte Blutkonzentrationen der Parameter festgestellt wurden. Zudem wurden signifikant erhöhte Parameter bei erniedrigtem kolloidosmotischem Druck des Plasmas (≤ 16 mmHg) identifiziert. Der kolloidosmotische Druck schien auch mit einer verminderten Thrombinfreisetzung verbunden zu sein, was somit zu einer Koagulopathie führte [99]. Die Studie von Grundmann et al. mit 25 Patienten, die einen Herzstillstand erlitten, zeigte einen Syndecan-1-Anstieg in der frühen Phase und einen Hyaluronan-Anstieg in der intermediären Phase des Postreanimationssyndroms. Die Syndecan-1-Konzentrationen korrelierten darüber hinaus mit der Dauer der Reanimation. Auch hier konnte schlussgefolgert werden, dass die Schädigung der endothelialen Glykokalix bei der Reanimation ein essentieller Faktor ist [77]. In weiteren Studien zeigte sich nach einem hämorrhagischem Schock bei Ratten die Assoziation der endothel-abhängigen Vasodilation bzw. Dysfunktion der Gefäße mit Leukozyten [100].

E- und P-Selektine spielen auch eine große Rolle bei der endothelialen Dysfunktion. Diese Glykoproteine der Endothelzellen sind verantwortlich für die Zelladhäsion. Die Freisetzung von P-Selektin aus intrazellulären Vesikeln mit Verlagerung an die Zelloberfläche erfolgt durch eine Entzündungsreaktion. Die Expression von E-Selektin wird durch Zytokine (z.B. TNF-alpha) stimuliert. Die Selektine binden dann an Polysaccharidgruppen von Leukozyten.

Somit korrelieren erhöhte Konzentrationen von E- und P-Selektin im Blut mit der Entwicklung einer Sepsis [8, 101].

Hyaluronan ist ein Bestandteil von DAMPs, die das Immunsystems via Pattern Recognition Receptors (PRRs) wie z.B. Toll like Receptors (TLRs) auf neutrophilen Granulozyten aktivieren. Dies kann auch durch Pathogen-associated Molecular Patterns (PAMPs) erfolgen [83, 102, 103]. Durch die gesteigerte Aktivierung von neutrophilen Granulozyten wird so auch die Glykokalix weiter geschädigt. Laut neueren Studien haben auch Matrixmetalloproteasen einen großen Einfluss auf das Glykokalix-Shedding, was wiederum neue Forschungs- und Therapieansätze erbringt [104, 105]. Ebenso steht das endogene (Nor-)Adrenalin im Verdacht, das Endothel bei Sepsis zu schädigen. Darüber hinaus ist es mit erhöhten Endothelmarkern im Blut (z.B. Syndecan-1) und erhöhter Mortalität assoziiert [76, 106]. Zusammenfassend ist das Endothel ein Schlüsselfaktor bei der Entwicklung eines MOF aus einer Sepsis [107].

2 Fragestellung und Zielsetzung

Bei einem Polytrauma beträgt die Letalität laut dem TraumaRegister DGU® 2017 in Deutschland 10,5% [4] trotz eines lückenlosen Systems von der Versorgung am Unfallort über den Transport bis hin zur endgültigen Versorgung in der Klinik nach den aktuellen Standards und Leitlinien, beispielsweise der S3-Leitlinie Polytrauma/Schwerer Verletzten-Behandlung (Stand 07/2016) [108]. Das Risiko der Entwicklung eines MOF bei einem Schwerverletzten liegt laut TraumaRegister DGU® bei 20% [4], was eine Steigerung der Mortalität auf 30 – 80% mit sich bringt [33, 43, 44]. Die Entwicklung eines SIRS, im Folgenden einer Sepsis und eines MOF beruht auf komplexen Reaktionen des Immunsystems bzw. dessen Dysregulation auf die massive Gewebeschädigung durch das Trauma und möglichen Infektionen. In den vergangenen Jahren wurde die Glykokalix als entscheidender Faktor der Immunreaktion und der Entwicklung eines MOF identifiziert. Sie ist an vielen Reaktionen im Körper beteiligt, da sie eine entsprechend große Angriffsfläche durch die Auskleidung des Endothels im Gefäßsystem darstellt [63–73]. Das ist die Grundlage vieler aktueller Studien zur Erforschung der Pathophysiologie der Glykokalix mit Identifizierung prognostischer Marker für den Verlauf und daraus hervorgehenden Therapiemöglichkeiten. Anhand von Blutentnahmen direkt nach dem Trauma und in festgelegten Zeitintervallen wurden so die Glykokalixbestandteile Syndecan-1 und Hyaluronan verwendet, um in Zusammenschau mit den weiteren entscheidenden Kenngrößen Überleben, ISS, MOF, Gerinnung und Massentransfusion im Rahmen der Behandlung des Polytraumas eine Kausalität nachzuweisen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es,

- den Anstieg der Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan im zeitlichen Verlauf nach Polytrauma darzustellen,

- eine mögliche Korrelation von erhöhten Syndecan-1- und Hyaluronankonzentrationen mit dem Versterben der Patienten vor allem in den ersten Stunden bzw. Tagen nach Unfall zu untersuchen,
- einen Zusammenhang von erhöhten Serumkonzentrationen mit einer erhöhten Verletzungsschwere (ISS) aufzuzeigen,
- anhand des Quick-Wertes einen Zusammenhang von einer verminderten Gerinnung mit dem Anstieg der Glykokalixbestandteile und somit einer Schädigung der Glykokalix nachzuweisen und
- zu untersuchen, ob Massentransfusionen zu erhöhten Syndecan-1- und Hyaluronankonzentrationen führen und so einen möglichen prognostischen Faktor herauszuarbeiten sowie
- die posttraumatische Dynamik der Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan beim Multiorganversagen im Vergleich zu Patienten ohne ein MOF abschätzen zu können.

3 Patienten und Methoden

3.1 Studiendesign

3.1.1 Patientenkollektiv

Im Zeitraum von Dezember 2000 bis Juni 2012 wurde die klinisch-experimentelle Studie an der Klinik für Allgemeine, Unfall-, Hand- und Plastische Chirurgie der Ludwig-Maximilians-Universität München, Standort Innenstadt durchgeführt. Die Genehmigung durch die lokale Ethikkommission liegt unter dem Aktenzeichen (012/00) vor. Insgesamt konnten 49 schwer polytraumatisierte Patienten für die Studie eingeschlossen werden. Die initiale Aufnahme erfolgte innerhalb von 90 Minuten nach Trauma über den Schockraum der Klinik. Die Schwere der Verletzungen wurde mit Hilfe des Injury Severity Score (ISS) erfasst [109]. Ein Punktwert von 16 Punkten und mehr definiert das Verletzungsmuster als schweres Polytrauma [110] und war ein weiteres entscheidendes Einschlusskriterium für die Studie. Als Ausschlusskriterien wurden die Überschreitung des Zeitfensters von 90 Minuten, Minderjährigkeit, Schwangerschaft, maligne Vorerkrankungen, immunsuppressive Therapien und Inhaftierung definiert.

Die Daten, die sowohl die präklinische als auch die klinische Situation umfassen, wurden gemäß den derzeit gültigen Richtlinien des TraumaRegister DGU® der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie (TR-DGU) zur Dokumentation der Daten polytraumatisierter Patienten in der Studie erhoben [3, 4, 17, 18].

Die Einverständniserklärung zur Studienteilnahme wurde nach Wiedererlangung der entsprechenden kognitiven Fähigkeiten des jeweiligen Patienten, durch nahe Angehörige oder einen gesetzlichen Vertreter eingeholt.

3.1.2 Injury Severity Score (ISS)

Der Injury Severity Score (ISS) nach Baker et al. beschreibt die anatomische Verletzungsschwere [109] und ist der weltweit am häufigsten benutzte Score [110, 111, 112]. Die Grundlage hierfür ist die Abbreviated Injury Scale (AIS) [110, 113–115]. Mit Hilfe des AIS wird der jeweils

schwersten Verletzung in den sechs anatomischen Bereichen Kopf und Hals, Gesicht, Thorax, Abdomen, Extremitäten und Haut ein Punktwert entsprechend der Verletzungsschwere von 1 (gering) bis 6 (nicht überlebbare) zugeordnet. Die drei höchsten Punktwerte werden quadriert und die Summe ergibt den ISS [109]. Als schweres Polytrauma werden Patienten mit Punktwerten von 16 und mehr definiert [110, 116, 117], da hier ein signifikantes Mortalitätsrisiko von 10% oder höher vorliegt [6]. Dieser Grenzwert stellt ein entscheidendes Kriterium für den Einschluss in diese Studie dar.

3.1.3 Multiple Organ Failure (MOF)

Der Begriff Multiple Organ Failure (MOF) wurde erstmals im Jahr 1977 durch Eiseman et al. definiert und verwendet [118, 119]. Diese Erstbeschreibung bezog sich auf postoperative Komplikationen, die aber im Laufe der Weiterentwicklung in den folgenden Jahrzehnten auch im Bereich der Traumatologie in den Vordergrund rückte. So ist das Multiorganversagen die häufigste Todesursache nach Trauma [37]. 51% der Patienten, die ein Trauma nicht überleben, sterben infolge des MOF [42, 120]. Die Anzahl der Patienten mit einem ISS > 15, die posttraumatisch ein MOF entwickeln, variiert in der Literatur von 7,1% [121], über 15% [122] bis zu 33% [7]. Aktuelle Studien zeigen, dass die Sterblichkeit infolge des MOF aufgrund stetig verbesserter Behandlungsmethoden sinkt, dennoch aber eine deutliche Steigerung der Inzidenz bei Schwerverletzten zu beobachten ist [7]. Um das Multiorganversagen zu quantifizieren gibt es derzeit mehr als 17 Beschreibungen und Definitionen für Scoringssysteme [123]. In dieser Studie wurde der MOF-Score nach Goris et al. modifiziert nach Lefering et al. [27, 41] verwendet. Hierbei werden die Funktionen von Lunge, Herz, Nieren, Leber und Blut mit einem Punktwert von 0 (normale Funktion) über 1 (Dysfunktion) bis 2 (Organversagen) bewertet. Ein MOF liegt bei einem Punktwert von 4 oder mehr vor [124]. Im Rahmen der Modifikation des Scores wurde die Bewertung der Funktion von Neurologie und Gastrointestinaltrakt herausgenommen, da die Reliabilität hierdurch verringert werden würde [41].

3.1.4 Outcome

Zur Feststellung des definitiven klinischen Outcomes wurde als Endpunkt der Studie das 90-Tage-Überleben definiert. Dieser Zeitraum umfasst vor allem die Akutphase nach einem Trauma, den Aufenthalt auf der Intensivstation im Mittel 6,7 +/- 10,4 Tage sowie die Gesamtliegedauer im Krankenhaus (15,8 +/- 18,2 Tage) [125].

3.1.5 Gerinnung

Die Gerinnung spielt bei einem Trauma eine entscheidende Rolle. Bei ca. 25 % der polytraumatisierten Patienten kommt es zu einer sogenannten traumainduzierten Koagulopathie (Trauma Induced Coagulopathy, kurz TIC). Ursächlich hierfür sind zum einen der Blutverlust durch das Trauma selbst und der meist folgende hämorrhagische Schock. Damit einhergehend sind Hypoperfusion mit Hyperfibrinolyse, endotheliale Aktivierung und die Dysfunktion von Thrombozyten [126]. Die folgende Behandlung mit kristalloiden Infusionen bzw. Transfusionen am Unfallort und im Schockraum zum Volumenausgleich führt zu Dilution, Hypothermie und Azidose, die wiederum als das „lethal triad“ bezeichnet werden [126–128].

Zudem werden Thrombozyten durch das Immunsystem, das aufgrund der Gewebsverletzungen massiv stimuliert ist, aktiviert und setzen wiederum pro-inflammatorische Botenstoffe aus. Es kommt zu einem Kreislauf mit gleichzeitig aktivierter Gerinnung und Thrombolyse sowie dem massiven Verbrauch von Gerinnungsfaktoren. Durch das zuvor beschriebene „lethal triad“ wird dieser Umstand noch zusätzlich verstärkt [129, 130].

Um die Gerinnung zu messen wird in dieser Studie der Quick-Wert mit der Angabe in % verwendet. Der Normbereich liegt bei 70-120%. Die Bestimmung des Prozentwertes erfolgt aus der Thromboplastinzeit/Prothrombinzeit (Zeitangabe in Sekunden) und wird anhand einer Kalibrierkurve von Normplasma berechnet. Er ist ein Parameter für das extrinsische Gerinnungssystem, das durch Gewebeverletzungen aktiviert wird [131].

In einer prospektiven Studie von Balendran et al. aus dem Jahr 2017 lassen sich Rückschlüsse aus der Prothrombinzeit auf die Prothrombinkonzentration im Blut ziehen.

Die Blutentnahme bei den polytraumatisierten Patienten erfolgte nach Ankunft in der Klinik. Es zeigte sich eine Korrelation erniedrigter Prothrombinkonzentrationen mit erhöhter Mortalität und erfolgter Massentransfusion [132].

3.1.6 Massentransfusion

Die Massentransfusion ist ebenso ein zentraler Einflussfaktor auf die Gerinnung und die komplette Hämostase des Patienten. Trotz kontroverser Diskussionen ist die am häufigsten verwendete Definition der Massentransfusion die Substitution von mehr als zehn Erythrozytenkonzentraten in 24 Stunden [133–136]. Andere Definitionen sind der Austausch des gesamten Blutvolumens innerhalb von 24 Stunden [136] bzw. der Austausch von 50% des Blutvolumens innerhalb von drei Stunden [137]. Im Rahmen der Behandlung gibt es Massentransfusionsprotokolle, die verschiedene Parameter beinhalten. So ist beispielsweise eine Therapieempfehlung die permissive Hypotension bei Ausschluss eines Schädel-Hirn-Traumas sowie ein Ziel-Hb von 7-9 g/dl [128].

3.2 Studiendurchführung

Die erste Blutentnahme erfolgte nach der Initialdiagnostik (vor allem CT-Traumaspirale) innerhalb von 90 Minuten nach Trauma meist im Schockraum aus einem arteriellen Zugang sowie die weiteren je sechs und zwölf Stunden nach Ereignis dann im OP oder auf Intensivstation. Bei jeder Abnahme wurden Vacutainer der Firma *Becton, Dickinson and Company* verwendet. Je 4ml Blut im Lithium-Heparin-Vacutainer, 4,5ml im Citrat-Vacutainer und 5ml im Serum-Vacutainer wurden direkt im Anschluss an die Abnahme bei 2500u/min und 20°C für zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in 1,5ml-Eppendorfgefäße pipettiert, fachgerecht beschriftet und anschließend bei -80°C konserviert.

3.3 Nachweismethoden für Syndecan-1 und Hyaluronan

Die Konzentrationsbestimmungen von Syndecan-1 und Hyaluronan erfolgten in Zusammenarbeit mit dem anästhesiologischen Forschungslabor der LMU und unter wissenschaftlicher Kooperation mit Prof. Dr. med. Thorsten Annecke. Es wurde der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) als Grundverfahren für beide Messungen verwendet. Das Prinzip beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion und wird im Folgenden näher beschrieben.

3.3.1 Sandwich-ELISA für den Nachweis von Syndecan-1

Die Konzentration des Proteins Syndecan-1 wurde mit Hilfe des Human sCD138 (Syndecan-1) ELISA Kit der Firma Diaclone SAS (Product Number: 950.640; Diaclone SAS, 6 Rue Docteur Jean-François-Xavier Girod, BP 1985, 25020 Besancon Cedex, France) gemessen. Zuerst wurden die Wells der Mikrotiterplatte gemäß Protokoll mit den Plasmaproben sowie den Standard-, Kontroll- und Nullreihen bestückt. Zu allen Wells wurden je 50µl biotinylierter Anti-CD138-Antikörper gegeben und die abgedeckte Platte bei Raumtemperatur für eine Stunde inkubiert. Anschließend wurde der Überstand abpipettiert und die Wells mit je 300µl Waschlösung dreimal gespült. Danach wurden je 100µl Streptavidin-HRP-Lösung zugegeben und die Platte bei Raumtemperatur

für weitere 30 Minuten inkubiert. Es folgte der bereits beschriebene Waschgang. Zur Induktion der Farbreaktion wurden dann je 100µl der TMB(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin) -Substratlösung zupipettiert. Bei Raumtemperatur erfolgte die Inkubation für 12 – 15 Minuten im Dunkeln. Zum Stoppen der Enzym-Substrat-Reaktion wurden je 100µl H₂SO₄-Lösung zugegeben. Im Anschluss fand die photometrische Absorptionsmessung bei 450nm statt, die direkt proportional zur Syndecan-1-Konzentration war.

3.3.2 Kompetitiver ELISA für den Nachweis von Hyaluronan

Für die Konzentrationsbestimmung des Polysaccharids Hyaluronan wurde das Hyaluronan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit (HA-ELISA) der Firma Biosciences Inc. (Product Number: K-1200; Echelon Biosciences Inc., 675 Arapeen Drive, Suite 302, Salt Lake City, UT 84108) verwendet. Auf der Inkubationsplatte wurden die Standardreihe, die leeren Kontrollen, die Nullkontrollen und die Plasmaproben entsprechend des Protokolls pipettiert. Anschließend wurden je 50µl Hyaluronsäure(HA)-Detektor zu allen Wells mit Ausnahme der leeren Kontrollen gegeben. Nach vorsichtiger Durchmischung der Substanzen wurde die Platte bei 37°C für eine Stunde inkubiert. Anschließend wurden je 100µl der Wells korrespondierend auf die Detektionsplatte übertragen und es folgte eine erneute Inkubation für vier Minuten bei 30°C. Nach diesem Schritt wurden die Wells entleert und dreimal mit je 200µl Waschpuffer gesäubert. Nach der Zugabe von je 100µl Enzymlösung erfolgte eine erneute Inkubation für 30 Minuten bei 37°C. Im Anschluss wurde die Platte wie bereits geschrieben gesäubert. Zu jedem Wells wurden je 100µl Substratlösung mit p-Nitrophenylphosphat zupipettiert und die Platte dann bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Nach 15 Minuten erfolgte die erste photometrische Absorptionsmessung bei 405nm. Die Farbintensität ist zur Konzentration indirekt proportional. Die Dauer der Inkubation wurde mit Hilfe der Nullkontrollen und der Standardkontrolle 1600ng/ml ermittelt. Wurde das Verhältnis der optischen Dichten (OD_{ZERO}/OD_{1600}) > 3.0 erreicht, konnte die Reaktion mit je 50µl Stopp-Lösung beendet werden.

4 Ergebnisse

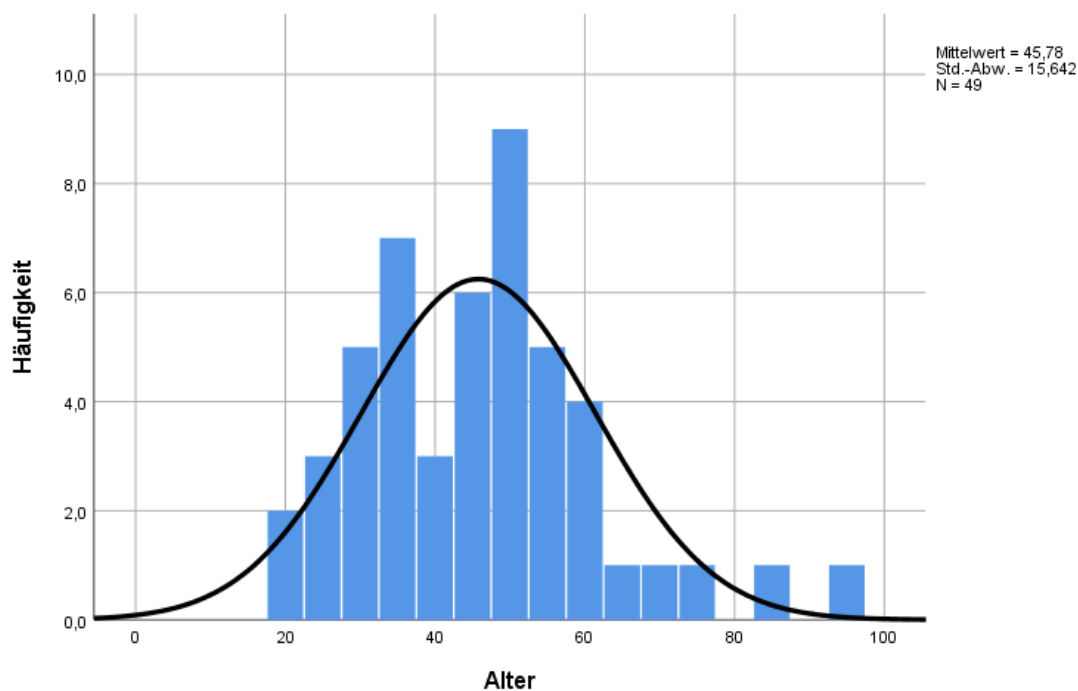
4.1 Patienten

4.1.1 Klinische Daten

In die Studie wurden insgesamt 49 Patienten mit einem ISS von größer 15 Punkten eingeschlossen. Eine Übersicht über die epidemiologischen Daten zeigt Tabelle 1.

Das Patientenkollektiv umfasst 17 Frauen (34,7%) und 32 Männer (65,3%). Das Alter lag zwischen 20 und 94 Jahren, im Mittel lag es bei 45,78 Jahren. In der Abbildung 1 zeigt sich die Altersverteilung im Vergleich zur Normalverteilung.

Abbildung 2: Altersverteilung



Die Verletzungsschwere lag im Rahmen des ISS zwischen 16 und 59 Punkten, der Mittelwert betrug 35,78 Punkte. Der Median des ISS war bei 34,00 Punkten, aufgrund dessen erfolgte eine Aufteilung des Patientenkollektivs in zwei Gruppen (Gruppe 1: $\text{ISS} \leq 34$ mit $n=27$; Gruppe 2: $\text{ISS} > 34$ mit $n=22$).

Insgesamt 37 Patienten (75,5%) überlebten das Unfallereignis im 90-Tage-Betrachtungsintervall, 12 Patienten (24,5%) verstarben in diesem Zeitraum. Der Mittelwert des ISS bei den Verstorbenen lag bei 40,17 Punkten, das mittlere Alter bei 53,25 Jahren.

Der Multi Organ Failure Score (MOF) betrug im Mittel zu jedem Blutentnahmezeitpunkt mehr als 4 Punkte (MOF 0h: 4,39; MOF 6h: 4,73; MOF 12h: 4,61). Der maximale MOF über alle Blutentnahmezeitpunkte lag im Mittel bei 5,24 Punkten und zeigte einen Median von 6,0 Punkten. Daraufhin erfolgte auch hier eine Gruppeneinteilung (Gruppe 1: MOF < 6 mit n=19; Gruppe 2: MOF \geq 6 mit n=30).

Der initiale Quick war bei der 0h-Blutabnahme bei 18 Patienten normal, bei den anderen 31 Patienten vermindert.

Hinsichtlich der Massentransfusion wurde das Kriterium mit \geq 10 Erythrozytenkonzentraten innerhalb der ersten 24 Stunden bei 21 Patienten erfüllt.

4.1.2 Epidemiologische Daten

Tabelle 1: epidemiologische Daten des Patientenkollektivs

	ALTER	Geschlecht	ISS	VERSTORBEN	TODESURSACHE
1	38	M	33	X	MOF
2	59	M	50	X	MOF
3	74	W	26	X	MOF
4	44	M	57		
5	46	M	34		
6	34	M	54		
7	43	M	41		
8	58	M	29		
9	48	W	50	X	SHT
10	25	W	50		
11	51	W	45	X	SHT
12	57	M	57		
13	40	M	29		
14	71	W	20	X	MOF
15	32	M	34		
16	51	W	43	X	SHT
17	49	M	24	X	MOF
18	32	M	34	X	MOF
19	28	W	34		
20	33	M	34		
21	37	M	42		
22	48	W	35		
23	29	M	41		
24	51	M	29		
25	61	W	34		
26	35	M	57	X	MOF
27	36	M	29		
28	65	W	27		
29	35	W	36		
30	84	W	29		
31	94	M	59	X	resp. Insuffizienz
32	28	W	45		
33	37	W	41	X	SHT
34	20	M	22		
35	53	M	36		
36	50	M	29		
37	46	M	22		
38	53	M	22		
39	25	W	16		
40	38	W	18		
41	21	M	22		

42	52	M	20		
43	46	M	34		
44	60	M	38		
45	24	W	50		
46	53	M	27		
47	54	M	50		
48	44	M	34		
49	51	M	45		

4.2 Syndecan-1

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem Programm SPSS, Version 26. Es wurden der Mann-Whitney-U-Test und das allgemeine lineare Modell also ANOVA bei Messwiederholungen verwendet. Bei allen Tests zeigte die Untersuchung der Annahme einer vorliegenden Sphärizität der Messwerte eine Verletzung dieser Vorbedingung mit $p < 0,05$ im Mauchly-Test. Bei jeweils einer Prüfgröße von $\epsilon < 0,75$ wurde die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet.

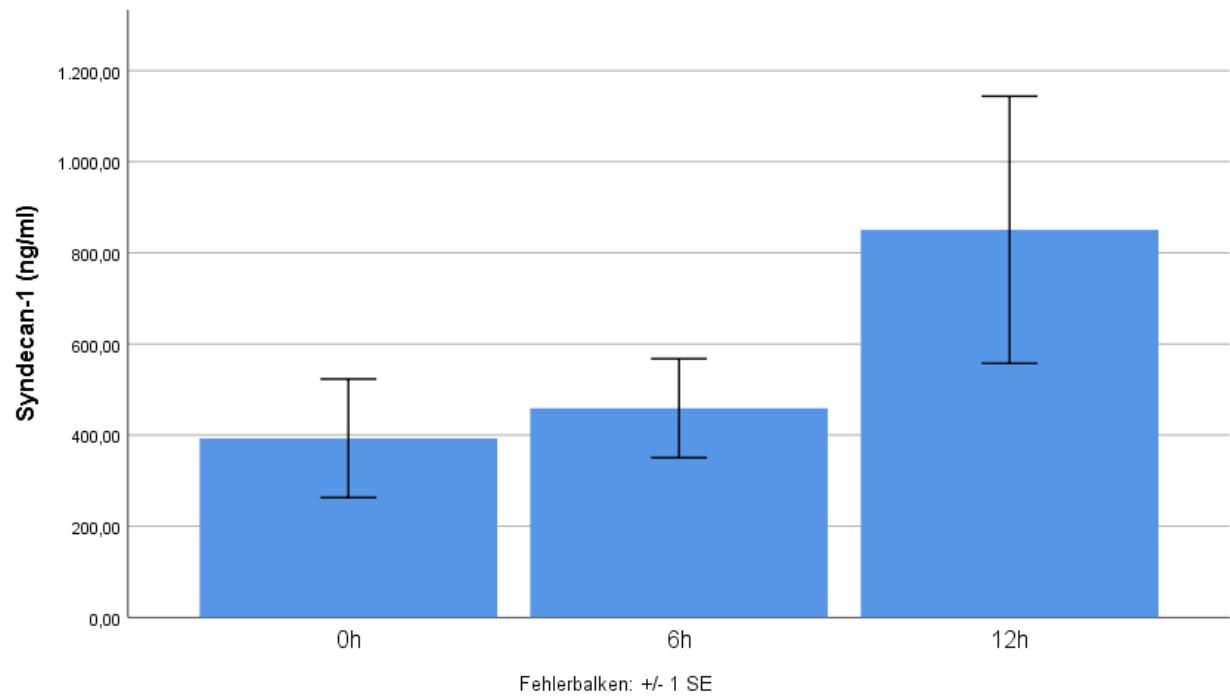
4.2.1 Serumkonzentration von Syndecan-1

Die Mittelwerte der Serumkonzentration von Syndecan-1 wurden jeweils in ng/ml berechnet und mit dem Standard Error (± 1 SE) grafisch dargestellt. Die nachfolgende Abbildung zeigt den zeitlichen Verlauf der Konzentration zu den Abnahmepunkten 0h, 6h und 12h. Das hier durchgeführte allgemeine lineare Modell zwischen den Stichproben zeigte nach Greenhouse-Geisser mit $p = 0,008$ einen signifikanten Anstieg der Messwerte zu den Messzeitpunkten.

Tabelle 2: Serumkonzentrationen von Syndecan-1

Zeitpunkte der Bestimmung der Serumkonzentration von Syndecan-1	Anzahl	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
0h	49	2,14	4738, 00	392, 8865	910, 62920
6h	49	8,17	3012,00	458,9896	759,53953
12h	49	1,87	10542,00	850,7688	2051,61352

Abbildung 3: Serumkonzentration von Syndecan-1



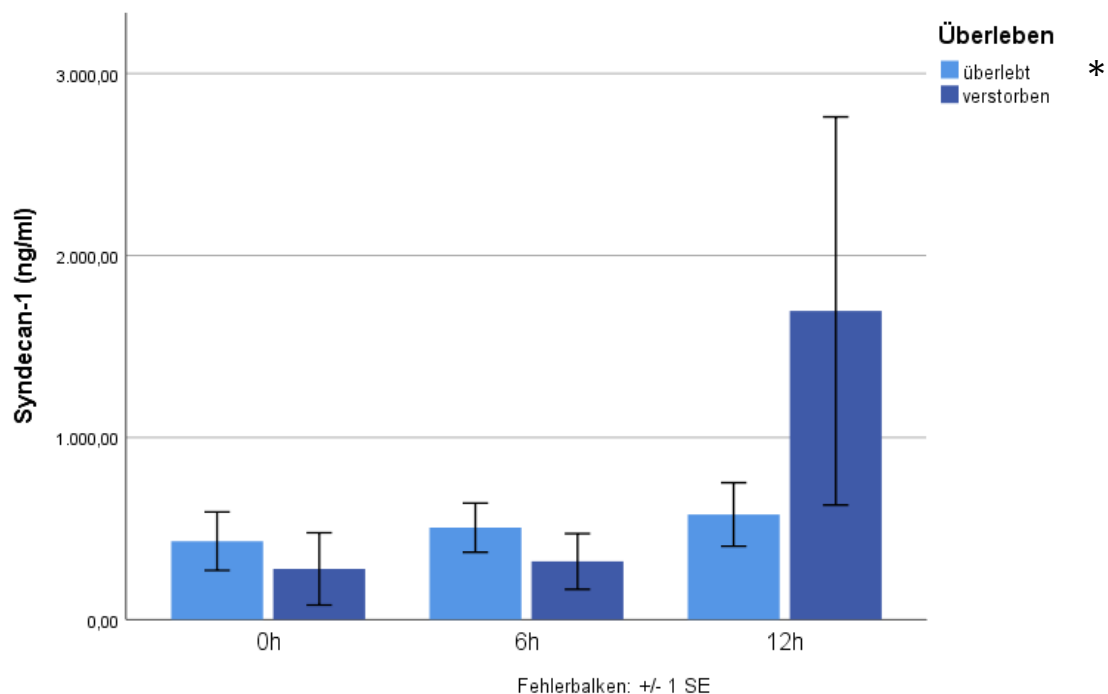
4.2.2 Syndecan-1 und Überleben

Im Folgenden zeigt Abbildung 3 die Serumkonzentration von Syndecan-1 in Abhängigkeit von Überleben bzw. Versterben. Die Syndecan-1-Konzentration bei den Verstorbenen zeigt vor allem bei der 12h-Messung einen deutlichen Anstieg. Der Zusammenhang wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test und dem allgemeinen linearen Modell überprüft. In diesem zeigte sich nach Greenhouse-Geisser mit $p = 0,024$ ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Gruppen und den Syndecan-1-Konzentrationen.

Tabelle 3: Ergebnisse multivariate Analyse Syndecan-1 und Überleben; Signifikanz $p < 0,05$

	F	Greenhouse-Geisser	P
Zeit	6,694	0,624	0,008**
Zeit*Versterben	4,867		0,024*

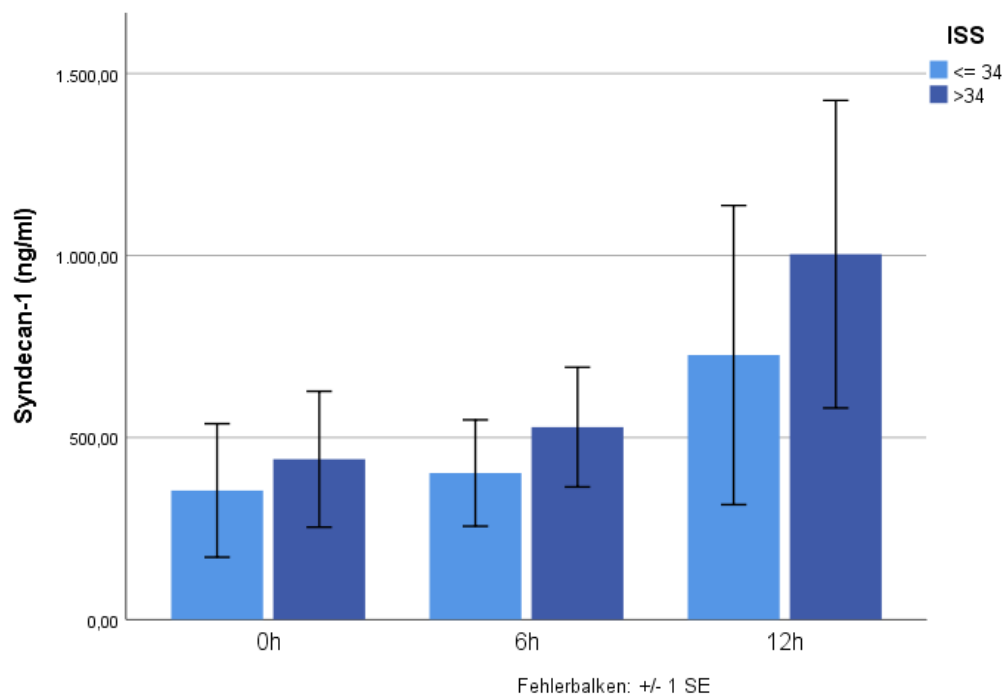
Abbildung 4: Zusammenhang zwischen Syndecan-1 und Überleben



4.2.3 Syndecan-1 und ISS

Den Zusammenhang zwischen der Syndecan-1-Serumkonzentration und dem ISS zeigt Abbildung 6. Die Einteilung der Gruppen erfolgte nach dem Median des ISS bei 34,00 Punkten. In der Gruppe mit ISS > 34 Punkten findet sich ein im Verhältnis höherer Anstieg der Serumkonzentration von Syndecan-1 als bei der Gruppe mit einem ISS \leq 34 Punkten. Die Überprüfung des Zusammenhangs mit dem Man-Whitney-U-Test und dem allgemeinen linearen Modell mit $p = 0,196$ ergab keine Signifikanz.

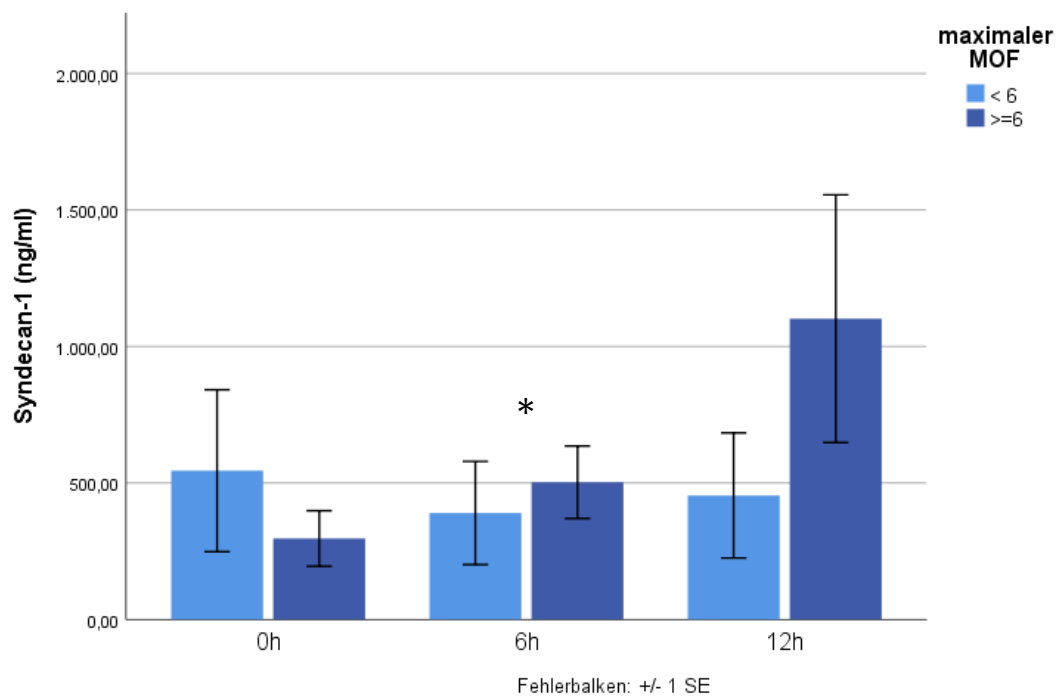
Abbildung 5: Zusammenhang zwischen Syndecan-1 und ISS



4.2.4 Syndecan-1 und maximaler MOF

Die Gruppeneinteilung erfolgte nach dem maximalen MOF innerhalb der ersten 12 Stunden, der Median lag bei 6,0 Punkten. Die Gruppe mit einem maximalen MOF ≥ 6 Punkte zeigte einen kontinuierlichen Anstieg der Serumkonzentration von Syndecan-1 (siehe Abbildung 7). Ein statistischer Zusammenhang bestand mit $p = 0,043$ nach dem Man-Whitney-U-Test bei den 6h-Werten. Das allgemeine lineare Modell zeigte mit $p = 0,203$ keinen signifikanten Zusammenhang.

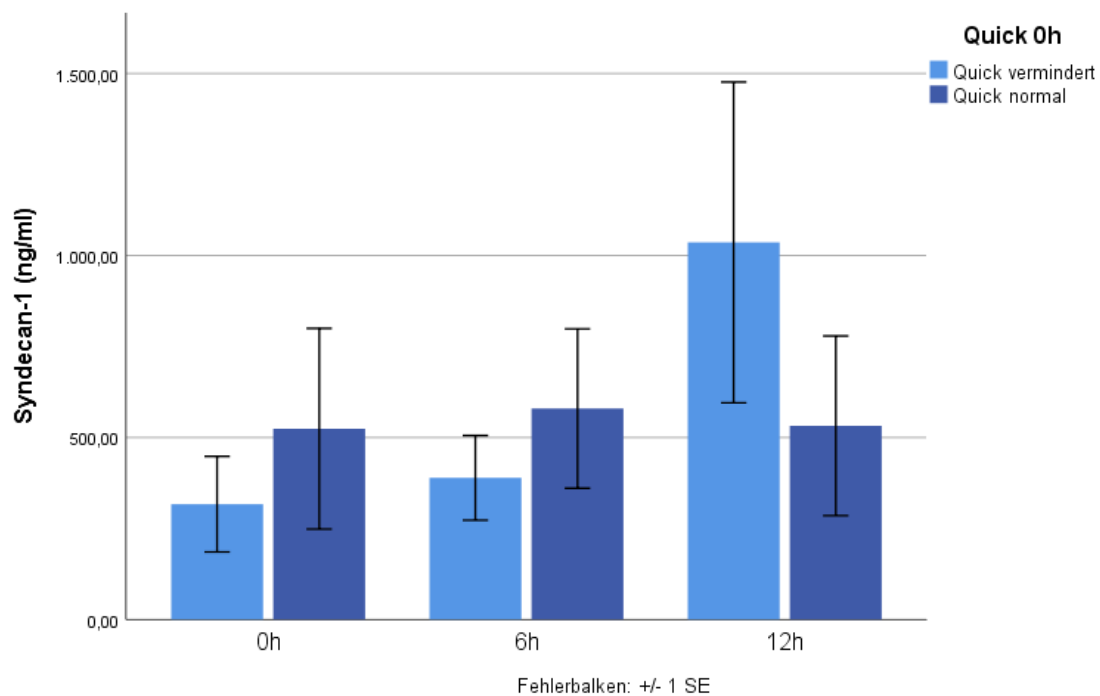
Abbildung 6: Zusammenhang zwischen Syndecan-1 und maximalem MOF



4.2.5 Syndecan und Gerinnung

Die Gerinnung wurde anhand des Quicks bei der 0h-Abnahme untersucht, da im Verlauf durch Infusionen und Transfusionen eine Verfälschung der Werte anzunehmen ist. Ein verminderter Quick wurde mit $< 70\%$ definiert. Hier zeigt sich bei Patienten mit erniedrigtem Quick die Tendenz zu steigenden Syndecanwerten. Im multivarianten Modell zeigt sich mit $p=0,197$ sowie in den Einzelvergleichen ($p=0,962$; $0,836$ und $0,290$) keine Signifikanz.

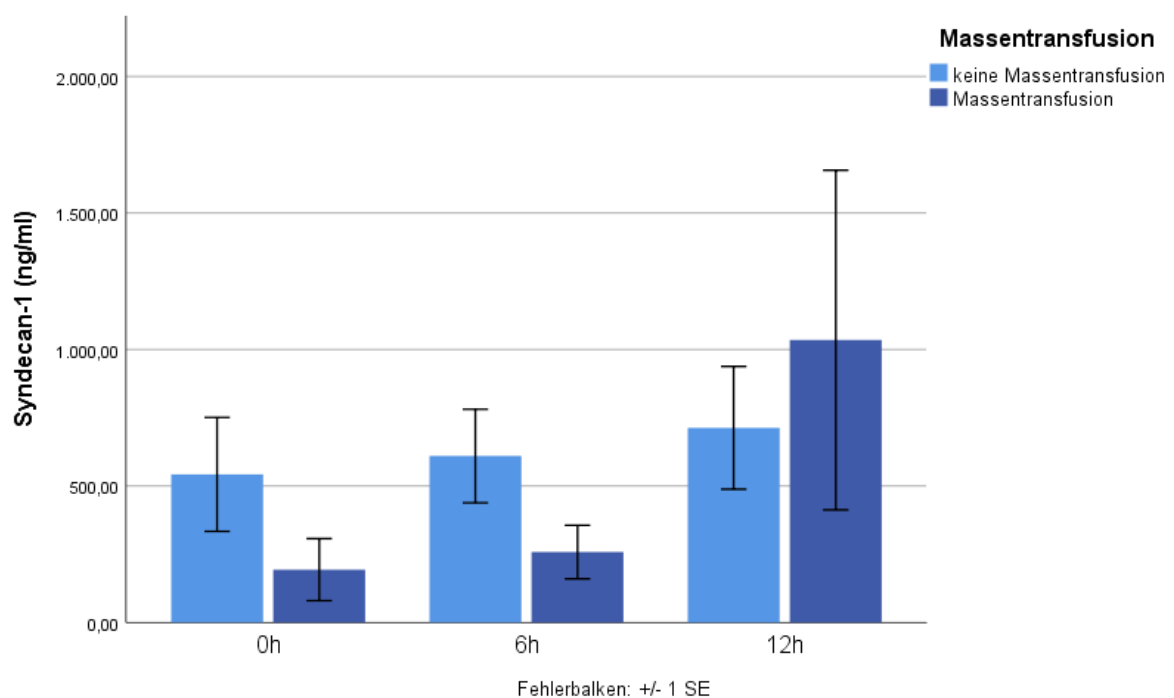
Abbildung 7: Zusammenhang zwischen Syndecan-1 und Quick 0h



4.2.6 Syndecan und Massentransfusion

Die Massentransfusion wurde durch mindestens oder mehr als 10 Erythrozytenkonzentrate innerhalb der ersten 24 Stunden definiert und ist bei 21 von 49 Patienten erfolgt. Ähnlich zur Gerinnung zeigt sich auch hier bei erfolgter Massentransfusion eine Tendenz zu steigenden Syndecanwerten im zeitlichen Verlauf, die aber weder im multivariaten Modell ($p=0,685$) noch in den Einzelvergleichen ($p=0,474$; $0,310$ und $0,576$) signifikant waren.

Abbildung 8: Zusammenhang zwischen Syndecan-1 und Massentransfusion



4.3 Hyaluronan

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte analog zur Auswertung von Syndecan-1 mit dem Programm SPSS Version 26. Der Mauchly-Test zeigte auch hier in allen Varianten eine Verletzung der Sphärizität mit $p < 0,05$. In Folge dessen wurde bei $\epsilon < 0,75$ im Test der Innersubjekteffekt die Korrektur nach Greenhouse-Geisser verwendet.

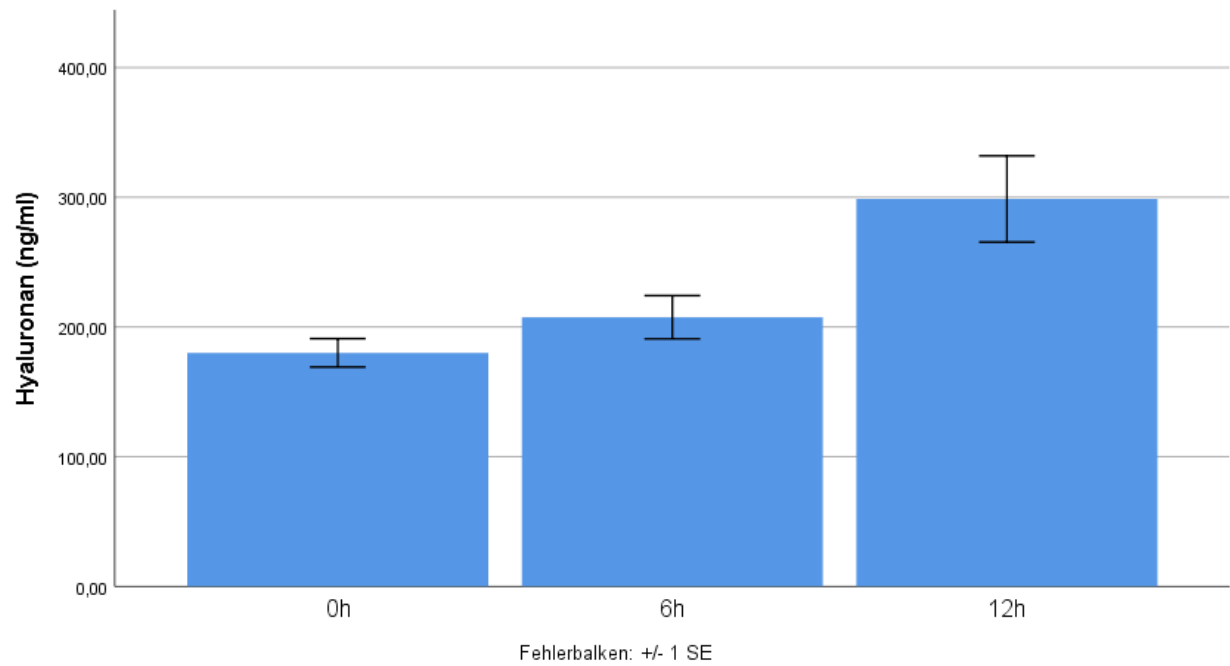
4.3.1 Serumkonzentration von Hyaluronan

Die Mittelwerte der Serumkonzentration von Hyaluronan wurden in der nachfolgenden Abbildung in ng/ml mit einem Standard Error (+/- 1SE) dargestellt. Im Allgemeinen linearen Modell zeigte sich in der Korrektur nach Greenhouse-Geisser mit $p = 0,001$ ein signifikanter Unterschied im Anstieg der Konzentrationen zu den einzelnen Messzeitpunkten.

Tabelle 4: Serumkonzentrationen von Hyaluronan

Zeitpunkte der Bestimmung der Serumkonzentration von Hyaluronan	Anzahl	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
0h	49	80,97	389,76	180,0180	76,67594
6h	49	88,46	581,24	207,4596	116,63357
12h	49	88,68	1312,85	298,7045	232,65245

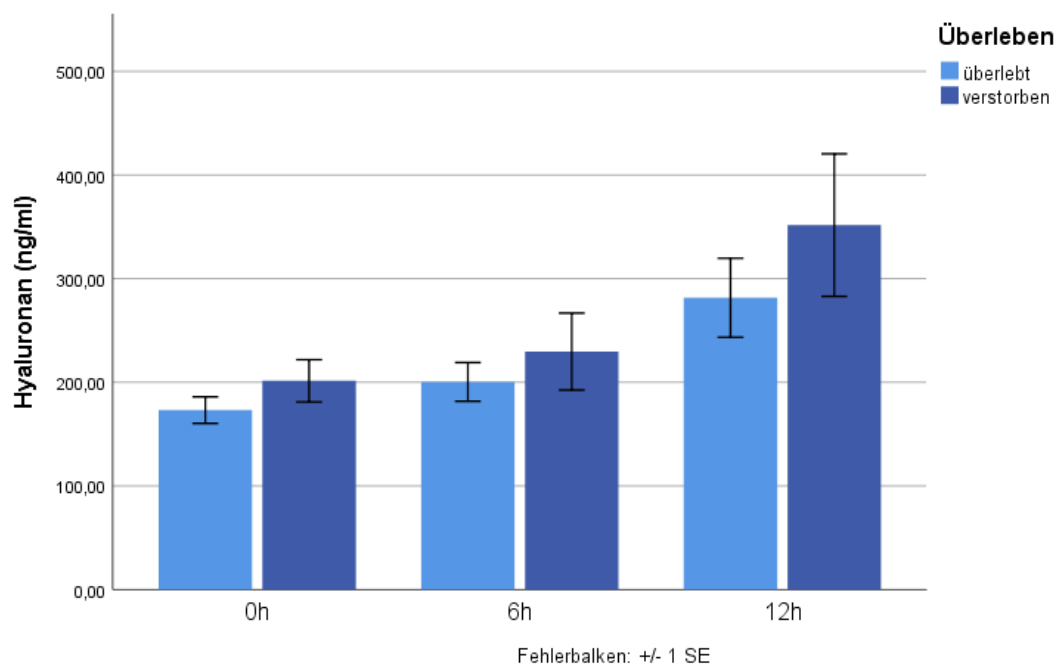
Abbildung 9: Serumkonzentration von Hyaluronan



4.3.2 Hyaluronan und Überleben

Abbildung 11 stellt den Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von Hyaluronan und dem Überleben bzw. Versterben dar. Es zeigt sich bei beiden Gruppen ein Anstieg der Hyaluronankonzentration im Verlauf der Zeit. Der Unterschied ist laut dem Man-Whitney-U-Test und dem allgemeinen linearen Modell mit $p = 0,700$ nicht signifikant.

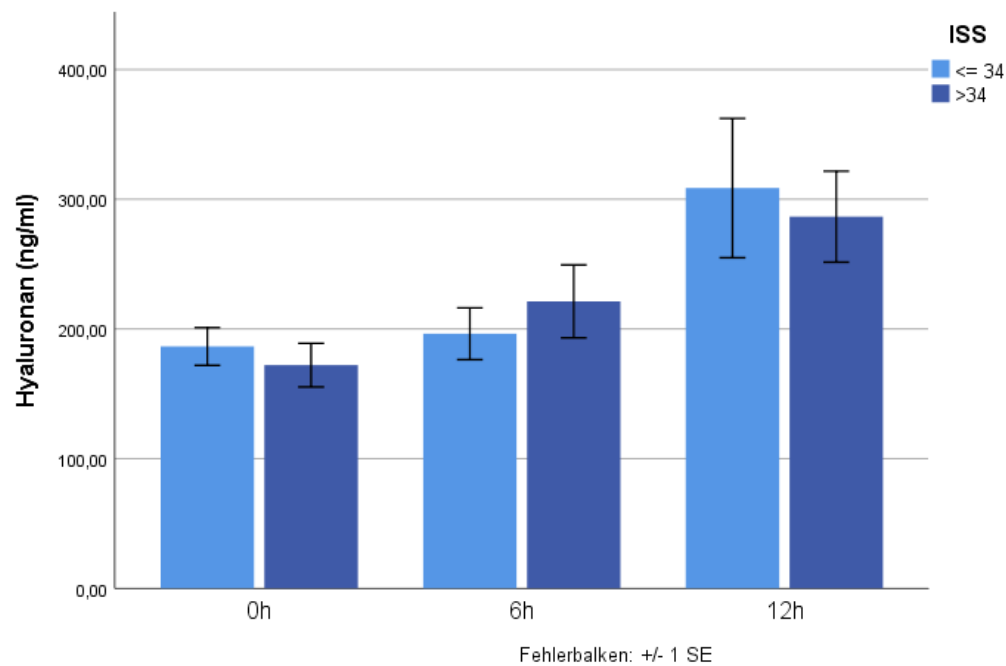
Abbildung 10: Zusammenhang zwischen Hyaluronan und Überleben



4.3.3 Hyaluronan und ISS

Im Zusammenhang mit dem ISS zeigt die Serumkonzentration von Hyaluronan bei beiden Gruppen einen Anstieg im zeitlichen Verlauf über 12 Stunden. Es besteht laut dem Man-Whitney-U-Test und dem allgemeinen linearem Modell mit $p = 0,611$ kein signifikanter Unterschied.

Abbildung 11: Zusammenhang zwischen Hyaluronan und ISS



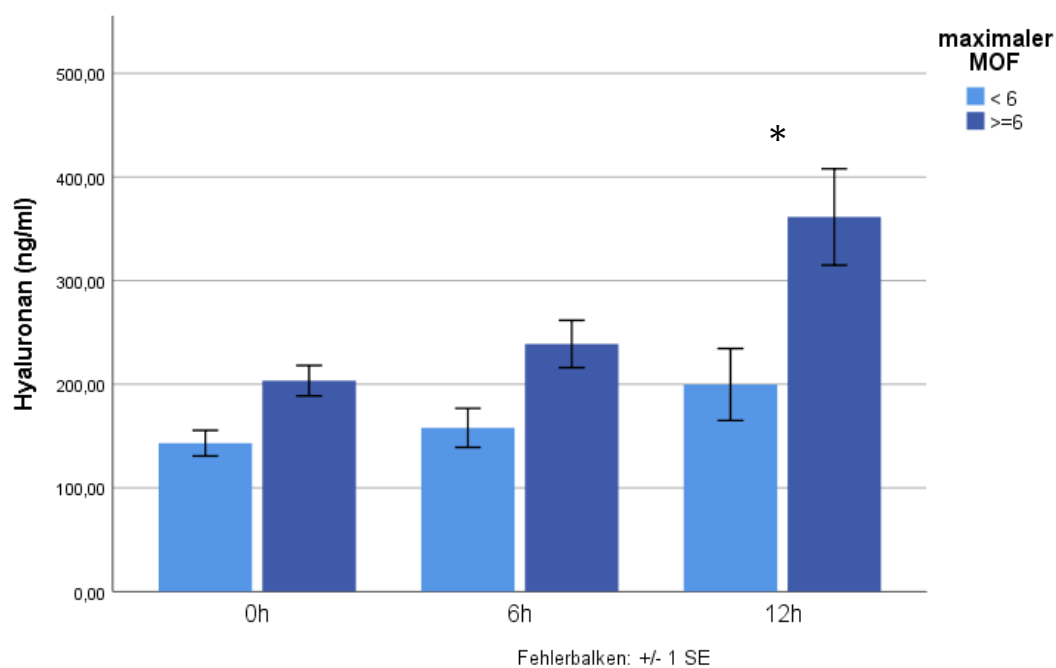
4.3.4 Hyaluronan und maximaler MOF

Die folgende Abbildung 13 zeigt den Zusammenhang zwischen der Hyaluronankonzentration und dem maximalen MOF innerhalb der 12 Stunden. Die Konzentration in beiden Gruppen steigt im zeitlichen Verlauf an. Laut dem allgemeinen linearen Modell ist dieser Anstieg mit $p = 0,186$ nicht signifikant. Der Man-Whitney-U-Test zeigt hier bei der 12h-Messung mit $p = 0,033$ einen signifikanten Zusammenhang.

Tabelle 5: Kruskal-Wallis-Test: Hyaluronan und max. MOF; Signifikanz $p < 0,05$

Kruskal-Wallis-Test	0h	6h	12h
p-Wert	0,158	0,098	0,033*

Abbildung 12: Zusammenhang zwischen Hyaluronan und maximalem MOF



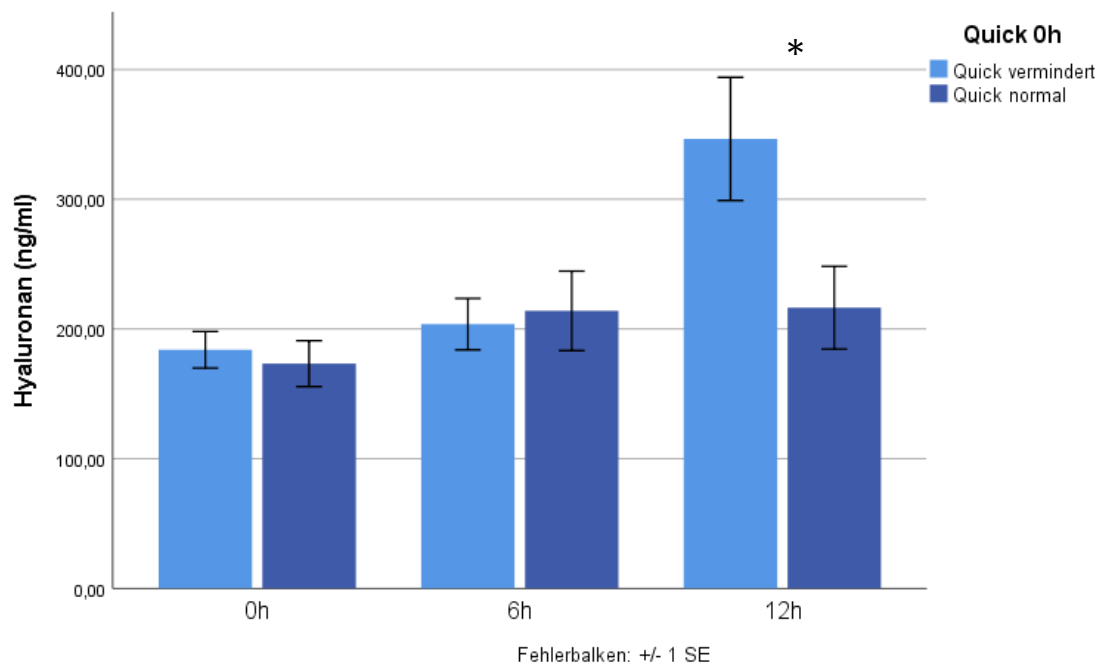
4.3.5 Hyaluronan und Gerinnung

Bei der Korrelation der Hyaluronankonzentrationen mit dem Quick konnte in der repeated-measures-Analyse signifikant steigende Werte bei Patienten mit niedrigem Quick, nicht aber bei denen mit normalem Quick ($p=0,045$) festgestellt werden. Ein signifikanter Unterschied zeigt sich nach 12h in den Einzelvergleichen ($p=0,694$; $0,901$ und $0,042$).

Tabelle 6: Mann-Whitney-U-Test Hyaluronan und Gerinnung; Signifikanz $p<0,05$

Mann-Whitney-U-Test	0h	6h	12h
p-Wert	0,0694	0,901	0,042*

Abbildung 13: Zusammenhang zwischen Hyaluronan und Quick 0h



4.3.6 Hyaluronan und Massentransfusion

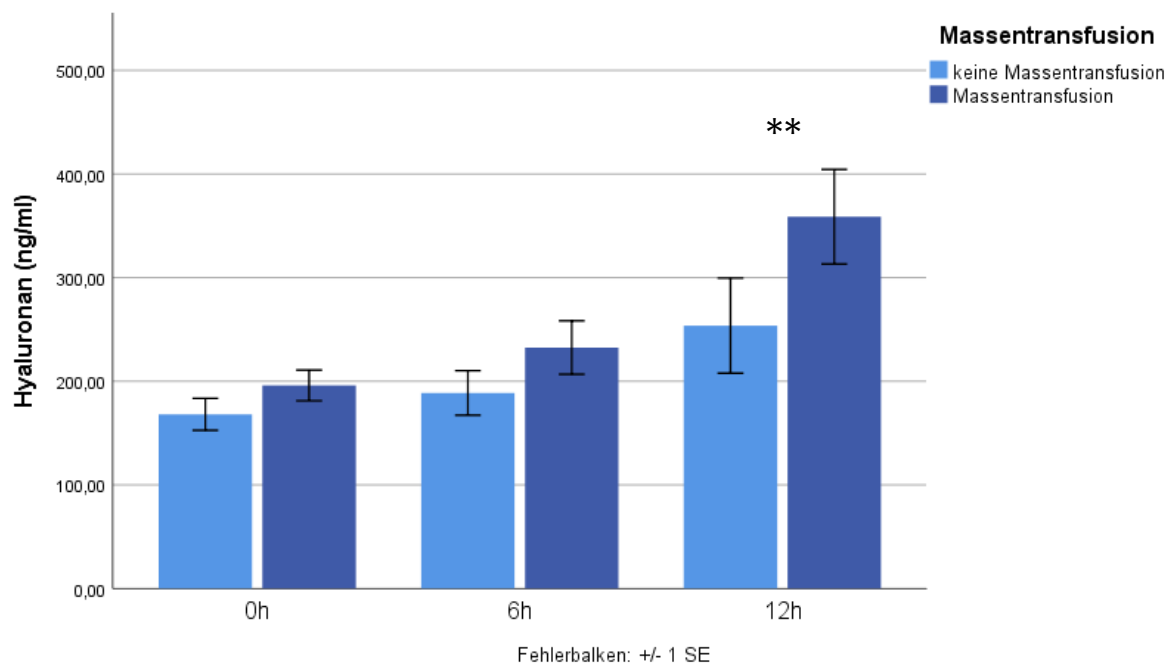
In der Abbildung 15 ist der Zusammenhang zwischen den Hyaluronankonzentrationen und der Massentransfusion dargestellt. In der repeated-measures-Analyse zeigen sich tendenziell höhere Werte bei massenttransfunden Patienten ($p=0,070$).

Ein signifikanter Unterschied besteht nach 12h in den Einzelvergleichen mit den erfüllten Kriterien einer Massentransfusion nach 12 h ($p=0,174$; $0,130$ und $0,023$) sowie der verwendeten Definition über 24h ($p=0,100$; $0,082$ und $0,006$).

Tabelle 7: Mann-Whitney-U-Test: Hyaluronan und Massentransfusion 24 h; Signifikanz $p<0,05$

Mann-Whitney-U-Test	0h	6h	12h
p-Wert	0,100	0,082	0,006**

Abbildung 14: Zusammenhang zwischen Hyaluronan und Massentransfusion



5 Diskussion

Diese Studie beschäftigt sich mit den Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan in der frühen posttraumatischen Phase nach Polytrauma. Ziel ist die Identifizierung von Parametern zur Abschätzung des Outcomes nach multiplen Verletzungen, die einzeln oder in Summe eine lebensbedrohliche Situation für den Patienten darstellen.

Grundlage für die Freisetzung von Syndecan-1 & Hyaluronan ist die Schädigung der endothelialen Glykokalix. Die genauen Mechanismen sind hier noch nicht vollständig erforscht. Aus den Ergebnissen ergibt sich aber ein signifikanter Zusammenhang mit dem Outcome und der Mortalität.

Zur Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erfolgte die erste Blutentnahme zeitnah nach Trauma innerhalb von 90 Minuten nach Ereignis. Die weiteren Abnahmen erfolgten im 6- bzw. 12-Stunden-Abstand und die Proben wurden jeweils direkt im Labor weiter untersucht. Das gewonnene Serum wurde für weitere Untersuchungen mittels ELISA zur Konzentrationsbestimmung von Syndecan-1 und Hyaluronan konserviert.

In ähnliche Studien konnten Syndecan-1 und Hyaluronan als verlässliche Marker für das Ausmaß der Glykokalixschädigung identifiziert und entsprechend in Korrelation gesetzt werden [66, 73, 74, 74–77].

In der Arbeit von Johansson et al. aus dem Jahr 2011 mit 57 Patienten nach Polytrauma zeigte sich eine Korrelation von Syndecan-1 mit dreifach erhöhter Mortalität. Syndecan-1 wurde auch hier als Marker für eine Endothelschädigung gesehen [74, 75]. Ostrowski et al. kamen im Jahr 2012 bei 77 Patienten ebenso zum Ergebnis, dass ein erhöhtes Syndecan-1 bei Traumapatienten mit einer Zerstörung der Glykokalix sowie einer endogenen Heparinisierung einhergeht [98].

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen auf einen Zusammenhang zwischen der endothelialen Schädigung der Glykokalix, die durch die erhöhten Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan mit einem signifikanten Anstieg über das Zeitintervall von 12 Stunden widerspiegelt werden, und der Mortalität schließen.

In der Studie von Ostrowski et al. im Jahr 2012, die 77 Traumapatienten umfasst, konnte Syndecan-1 im Zusammenhang mit der endogenen Koagulopathie und dem Ausmaß der Schädigung der Glykokalix in Verbindung gebracht werden [98]. Ähnliches zeigte sich auch in der Studie von Rahbar et al. mit 22 schwerverletzten Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe aus dem Jahr 2015. Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 44 Jahren, der mediane ISS bei 22 Punkten. Hier stand die Glykokalixschädigung, die über Syndecan-1 & Hyaluronan detektiert wurde, in direktem Zusammenhang mit einem erniedrigten kolloidosmotischen Druck. Hyaluronan korrelierte in dieser Studie zudem am stärksten mit dem ISS, welcher das Ausmaß der Verletzungen widerspiegelt [99].

Die Glykokalixschädigung ist ein zentrales Element nach Polytrauma und das Monitoring über deren Verlauf nach aktuellen Studien ein entscheidender prognostischer Faktor. Bei dieser Arbeit wurde durch die Blutentnahmen im zeitlichen Intervall die Veränderungen der Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan aufgezeigt. Besonders hervorzuheben ist die Messung der Konzentrationen bei Stunde 0. Hier ist der Einfluss von medizinischen Interventionen im Sinne von Bluttransfusionen, Operationen und ähnlichem aufgrund des kürzest möglichen Zeitraums zum Traumaereignis zu vernachlässigen. Somit stellt dieser Wert eine suffiziente Ausgangsgrundlage für alle weiteren Messungen in den verschiedenen Zeitintervallen dar.

5.1 Studiendesign und Methodik

5.1.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv umfasst insgesamt 49 Patienten, die alle bereits genannten Kriterien der Studie erfüllen. Der Mittelwert des Alters liegt bei 45,78 Jahren, wobei der jüngste Patient 20 Jahre und der älteste Patient 94 Jahre zum Zeitpunkt des Traumageschehens alt waren. Der ISS zeigt einen Mittelwert von 35,78 Punkten, der niedrigste lag bei 16 Punkten, der höchste Wert bei 59 Punkten. Im Vergleich zum TraumaRegister DGU® der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie waren die Patienten mit 38,5 Jahren etwas jünger und mit einem mittleren ISS von 22,1 [2] bzw. 22,6 Punkten [3] im Mittel leichter verletzt als die Studienpatienten. Bei einer vergleichbaren Studie von Sousa et al. aus dem Jahr 2015 mit 99 Patienten und ähnlichen Intervallen der Blutentnahmen lag das mittlere Alter bei 31 Jahren und der ISS bei 29 Punkten [138]. Hinsichtlich des Geschlechts zeigte sich eine dem TraumaRegister DGU® entsprechende Verteilung mit 65,3% Männern und 34,7% Frauen. Wie andere Studien belegen, hat das Geschlecht keinen Einfluss auf das Outcome [139].

Zu beachten ist bei dem Patientenkollektiv, dass die Proben über einen großen Zeitraum von mehr als zehn Jahren (Dezember 2000 bis Juni 2012) gewonnen wurden und die Versorgung der Schwerverletzten im Laufe der Zeit immer den aktuellen Forschungsergebnissen angepasst wurde. Hinsichtlich diverser Medikamente und der Volumensubstitution wurden die Empfehlungen stetig adaptiert. Die ursprüngliche S1-Leitlinie aus dem Jahr 2002 wurde zur S3-Leitlinie Polytrauma/Schwerverletzten-Behandlung weiterentwickelt [108]. Somit lässt sich ein Einfluss der veränderten Versorgungsrichtlinien auf die Serumkonzentrationen der Glykokalixbestandteile nicht abstreiten.

5.1.2 Zeitpunkt der Blutentnahme

Der Zeitpunkt der ersten Blutentnahme erfolgte bei allen Patienten binnen von 90 Minuten nach dem Trauma und war von vielen Faktoren abhängig, insbesondere von der Erstversorgung des Patienten und der Rettungskette bzw. der Transportdauer. Im Schockraum erfolgte dann die

Weiterversorgung und parallel dazu die Traumadokumentation gemäß den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie [20].

Die Zeitintervalle der Blutentnahmen nach 6h und 12h lassen eine ausführliche Verlaufsbeschreibung der Serumkonzentrationen in der initialen Traumaphase zu. In vergleichbaren Studien von Sousa et al. oder Anand et al. erfolgten die Blutentnahmen nur im 24h-Intervall, die detaillierte Entwicklung der Serumkonzentration der ersten 12h fehlt daher [138, 140]. Innerhalb dieses kurzen Zeitintervalls ist auch der Störfaktor von Interventionen, wie beispielsweise Operationen oder Bluttransfusionen geringer als bei Blutentnahmen im Abstand von 24 Stunden und mehr. In der ersten Stunden nach Trauma findet üblicherweise die sogenannte Damage Control Surgery statt und der Effekt von bakteriellen Infektionen hat weniger Relevanz als zu späteren Zeitpunkten [141].

5.1.3 Einfluss von Operation und Bluttransfusionen

In den letzten Jahrzehnten wurde das Therapiekonzept der Traumaversorgung stark verändert. Von der initialen Endversorgung ging man über zur Damage Control Surgery [141, 142], das heißt es werden zunächst nur die initial lebensbedrohlichen Verletzungen versorgt, eine endgültige Traumaversorgung erfolgt erst nach Ablauf der Immunreaktion [54] und Stabilisierung des Patienten innerhalb von Tagen bzw. Wochen. Das 90-Tage-Überleben hat sich aufgrund dieser Versorgungsstrategie deutlich verbessert [143]. Durch die initialen Operationen werden aber trotz allem zusätzliche Stimuli für das Immunsystem geschaffen. Dieser Einfluss ist aufgrund der Heterogenität der einzelnen Traumata mit unterschiedlichen Unfallmechanismen und Verletzungsmustern somit völlig divergent. Nichts desto trotz zeigen sich aber sowohl bei der Serumkonzentration von Syndecan-1 als auch bei der von Hyaluronan signifikante Anstiege innerhalb der ersten 12h.

Ein zusätzlicher Einfluss auf das Immunsystem bzw. eine Veränderung dessen kann im Rahmen von Transfusion von Erythrozytenkonzentraten, Fresh Frozen Plasma und ähnlichen beobachtet werden. Der Einsatz dieser Transfusionen wird aktuell als eine mögliche Therapie bei

Glykokalixschädigung diskutiert, da protektive Effekte vermutet werden. In Studien konnte gezeigt werden, dass Erythrozytenkonzentrate und normales Blut die Glykokalixdicke sowie deren Barrierefunktion verbessern und das Shedding im Sinne der Freisetzung von Syndecan-1 und Hyaluronan verhindern. Bei gewaschenen Erythrozytenkonzentraten zeigten sich diese Resultate nicht. Somit konnte gefolgert werden, dass das Plasma für diese positiven Effekte verantwortlich ist [144]. Ähnliche Erfolge sind auch bei Fresh Frozen Plasma zu verzeichnen. Mit der Erhöhung der mikrovaskulären Perfusion stabilisiert sich die endotheliale Glykokalix und eine Herstellung der ursprünglichen Dicke scheint möglich zu sein [83, 85, 145].

Dessen ungeachtet ist nicht geklärt, welchen Einfluss die Leukozyten in transfundierten Erythrozyten haben. Trotz einer Leukozytendepletion bleibt eine Restmenge von bis zu 1.000.000 pro Blutkonserve laut einer Richtlinie vom Paul-Ehrlich-Institut bestehen [146]. Des Weiteren wirken Transfusionen immunsuppressiv [147]. Auch hier ist aufgrund der Heterogenität der Traumapatienten hinsichtlich des Volumen- und Transfusionsbedarfs eine Aussage zum Einfluss dieser Faktoren auf das Immunsystem nicht abschließend zu treffen. Die gilt in gleichem Maß für die Veränderung der Glykokalix.

5.1.4 Messung der Serumkonzentration mittels ELISA

Bei den Blutentnahmen wurde jeweils Serum asserviert, da es sich als geeignetes Medium zum Nachweis der Glykokalixbestandteile Syndecan-1 und Hyaluronan zeigt. Wird die Glykokalix geschädigt, setzen sich die Bestandteile in den Blutkreislauf frei, was dem bereits beschriebenen Shedding entspricht. Der Ansatz, dass die freien Glykokalixbestandteile im Serum eine entsprechende Schädigung widerspiegeln, wurde bereits in vielen Studien so verwendet [63, 66, 74, 77, 79–81, 84, 85, 87, 89, 93]. Die Darstellung und Messung der Glykokalix wurde erstmals mit einem Elektronenmikroskop bzw. der Intravitalmikroskopie möglich, da jegliche Fixierungsprozesse die Glykokalix verändern und somit keine verlässlichen Aussagen zu Aussehen bzw. Zusammensetzung und Dicke zulassen. Eine neue Methode zur Visualisierung ist die Immunmarkierung mit konfokaler Lasermikroskopie [148, 149]. Aufgrund dessen kann das

Ausmaß der Glykokalixschädigung durch die Messung der Serumkonzentrationen freier Bestandteile nur in Relation gesetzt werden.

Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass sowohl Syndecan-1 als auch Hyaluronan nicht nur ausschließlich in der endothelialen Glykokalix vorkommen. So ist Syndecan-1 auch fester Bestandteil von Epithel- und Plasmazellen [150], Hyaluronan kommt in Lympheflüssigkeit und Bindegewebe vor [151]. Des Weiteren werden die hier beschriebenen Glykokalixbestandteile auch bei anderen Erkrankungen freigesetzt, wie beispielsweise Diabetes oder Arteriosklerose sowie beim Postreanimationssyndrom und neurodegenerativen Erkrankungen [63, 79, 90, 152]. Zum dezierten Nachweis wurde dann entsprechende ELISAs durchgeführt. Eine Studie zur Sensitivität und Spezifität des ELISAs bei Hyaluronan zeigt, dass der ELISA der Firma Echelon zwar eine große Variabilität hat, aber spezifischer bei der Molekülgröße ist [153].

Bei Syndecan-1 gibt es aktuell keine Literatur zum Vergleich der einzelnen ELISA hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität.

5.2 ISS- & MOF-Score

Der ISS ist der meist verwendeter Score [111] im Bereich der Kategorisierung bei polytraumatisierten Patienten und dient somit als Gold-Standard [154]. Er korreliert mit der Mortalität und dem Outcome [155] und definiert ein Polytrauma mit ≥ 16 Punkten [6, 117, 156]. Ein ähnliches Outcome zeigt sich in einem Punkteintervall von 16 bis 24 Punkten, wodurch sich die Frage stellt, ob höhere Punktezahlen zur Polytraumadefinition notwendig wären [157]. Zudem kann ein Punktwert aus verschiedenen Triplets je nach betroffenen Körperregionen bestehen, sodass unterschiedliche Verletzungsmuster eine gleiche Überlebenswahrscheinlichkeit zeigen [112, 158]. Der ISS steht in Diskussion, nicht das geeignete Scoringssystem zu sein, da er auch Monotraumata beinhalten kann [5, 9, 13]. Darüber hinaus gibt es beim ISS keine Unterscheidung zwischen stumpfem oder penetrierendem Trauma, was hinsichtlich der Mortalität signifikant differiert [159, 160] Da es sich in dem hier beschriebenen Kollektiv nur um verunfallte Personen handelt, kann dieser Aspekt jedoch vernachlässigt werden.

In der Studie wurde zur Validierung des Risikos eines Multiorganversagens der MOF-Score nach Goris et al. mit der Modifizierung nach Lefering et al. verwendet [41, 161], der ein Multiorganversagen bei vier Punkten definiert. Einflussfaktoren auf ein erhöhtes MOF-Risiko bestehen bei einem Alter > 55 Jahre, einem ISS > 25 und der Transfusionsbedürftigkeit > 6 EKs [162]. Im Vergleich zu anderen MOF-Scoringssystemen ist der Moore-Score sensitiver und spezifischer [124], der Denver-Score besser als der Marshall-Score [120]. Des Weiteren stellt sich die Frage, in wie weit ein MOF innerhalb der ersten 12 Stunden nach Trauma definiert werden kann. Nach Ciesla et al. wird erst nach 48 Stunden ein verwertbarer MOF-Score möglich [42]. Insgesamt wird die MOF-Inzidenz unterschiedlich diskutiert, sie stieg im Jahr 1987 [110] und sank im Jahr 2014 [163], was auf mögliche Veränderungen von Diagnostik sowie Therapie- und Behandlungsansätzen hinweist.

5.3 Korrelation der Serumkonzentrationen

In der vorliegenden Arbeit wird zum ersten Mal eine engmaschige Bestimmung der Serumkonzentrationen von schwerverletzten Patienten innerhalb der ersten zwölf Stunden nach Trauma durchgeführt.

Die Serumkonzentrationen von Syndecan-1 zu den Messzeitpunkten 0h, 6h und 12h zeigen einen signifikanten Anstieg im zeitlichen Verlauf. Dies ist bei den Serumkonzentrationen von Hyaluronan gleichermaßen der Fall.

Im Rahmen der Recherche nach vergleichbaren Studien ist aufgefallen, dass es viele Analysen der Serumkonzentrationen der Glykokalixbestandteile gibt, aber keinerlei Arbeiten, die die zeitliche Dynamik der ersten 12 Stunden wie hier beschrieben betrachten.

So haben Rahbar et al. die Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan sowie anderen Glykokalixbestandteile von 22 Traumapatienten im Vergleich zu fünf gesunden Probanden untersucht. Der ISS lag im Mittel bei 22 Punkten, das Alter bei 44 Jahren. Der Zeitpunkt der Blutentnahme wurde nicht mit einem definierten maximalen Abstand zum Unfall angegeben, sondern mit Aufnahme in der Klinik. So lässt sich der Wert nicht der hier durchgeführten 0h- oder

6h Abnahme zuordnen. Im Mittel zeigte sich die Serumkonzentration von Syndecan-1 mit 245,8 ng/ml, von Hyaluronan mit 946,7 ng/ml. Der Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe war signifikant, eine Korrelation zu einem erniedrigten kolloidosmotischen Druck konnte zudem nachgewiesen werden [99]. Die Werte zu einem einzigen Zeitpunkt ohne genaue Angabe des Intervalls nach Trauma lassen sich nicht mit den gemessenen Serumkonzentrationen in Zusammenhang bringen. Das Patientenkollektiv war im Vergleich zu dieser Arbeit im Durchschnitt jünger (36 versus 44 Jahre) und deutlich weniger schwer verletzt (22 versus 36 Punkte im ISS). Hyaluronan zeigte die stärkste Korrelation zum ISS ($p = 0,03$) und wurde als Indikator für die Gewebsverletzung diskutiert [99]. Die Messwerte dieser Arbeit können das Ergebnis nicht bestärken, da sich zwischen Hyaluronan und ISS keine Signifikanz ergab.

Ähnliche Ergebnisse zeigt auch die Studie von Ostrowski et al., bei der 77 Schwerverletzte betrachtet wurden. Auch hier erfolgte die Blutentnahme bei Aufnahme in die Klinik ohne eine genaue Angabe des Zeitintervalls. Die Serumkonzentration von Syndecan-1 korrelierte hier mit einer endogenen Heparinisierung im Sinne einer Koagulopathie [98].

In einer Studie von Sousa et al. wurde bei Polytraumapatienten mit einem $\text{ISS} \geq 16$ Punkten die Serumkonzentrationen von Zytokinen bei Aufnahme und in den Zeitintervallen 24, 48 und 72 Stunden gemessen. Dabei wurden IL-6 und IL-10 als wichtige Parameter zur Abschätzung von SIRS, MODS und dem Versterben identifiziert. Eine Messung hinsichtlich der Glykokalixschädigung ist nicht erfolgt [138].

Zusammenfassend im Vergleich der verschiedenen Studien zeigen sich bei Polytraumapatienten erhöhte Syndecan-1- und Hyaluronan-Konzentrationen als Folge einer Schädigung der Glykokalix. Der zeitliche Verlauf der Konzentrationen im Blut fehlt bei allen genannten Vergleichsarbeiten ebenso wie die Angabe des Zeitpunktes der einmaligen Blutentnahme nach dem stattgehabten Trauma. So kann keine Aussage zur Dynamik getroffen werden und den iatrogenen Einflüssen wie Transfusionen oder Operationen nicht in Zusammenhang gebracht werden. Aufgrund des persistierenden Schockzustandes bei den später versterbenden Patienten zeigt sich aber im Verlauf eine höhere Serumkonzentrationen der Glykokalixbestandteile, was auf ein weiteres Shedding schließen lässt. Dies ist vor allem bei Hyaluronan der Fall, wo sich bei allen Messungen

erhöhte Werte bei schwerem verletztem Patienten im Vergleich zu denen mit einem niedrigeren ISS zeigen.

5.3.1 Korrelation der Serumkonzentrationen von Syndecan-1 mit klinischen Parametern

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang der Serumkonzentration von Syndecan-1 im zeitlichen Verlauf zu der Blutentnahme nach 12 Stunden mit dem Überleben. Somit lässt sich daraus mutmaßen, dass ein persistierender Schockzustand bei den im Verlauf verstorbenen Patienten zu einem fortgesetzten Shedding der Glykokalix und somit zu einer gesteigerten Freisetzung von Syndecan-1 führt. In einer Studie von Grundmann et al. mit 25 Patienten nach Reanimation wurden ähnliche Ergebnisse beobachtet. Die im Verlauf der Behandlung verstorbenen Patienten zeigten eine signifikant höhere Serumkonzentration für Syndecan-1 als die Überlebenden [77]. Dies stimmt mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit überein, der Effekt und die Auswirkungen der unterschiedlichen Auslöser (Trauma versus Herzstillstand) sind jedoch zu berücksichtigen und lassen sich nur schwer vergleichen. In der Arbeit von Puskarich et al. mit 175 Patienten, die an einer schweren Sepsis litten, konnte eine ähnliche Korrelation nachgewiesen werden. 21% dieser Patienten verstarben im Verlauf, wobei eine signifikant höhere Syndecan-1-Konzentration als bei den Überlebenden festgestellt werden konnte [164].

Ein weiterer signifikanter Zusammenhang zeigt sich bei den Syndecan-1-Konzentrationen 6h nach Trauma mit dem MOF-Score. Der erhöhte MOF-Score weist auf einen schweren klinischen Verlauf hin. In Zusammenschau mit den Ergebnissen der vorher beschriebenen Studie von Puskarich et al. lassen sich die Ergebnisse gut vereinbaren. Die Kriterien des MOF-Scores zeigen im Vergleich zu den SIRS-Kriterien bzw. der Sepsis die deutliche Verschlechterung der Vitalparameter des Patienten [41, 164]. Patienten, die im Verlauf ein spätes MOF entwickeln, zeigen einen Anstieg der Syndecan-1-Konzentrationen im Gegensatz zu den Patienten ohne MOF, die einen Abfall der ursprünglich höheren Konzentrationen zeigen. Dies spricht insgesamt gegen eine starke Wirkung von Syndecan-1 als DAMP.

Hinsichtlich einer verminderten Gerinnung zeigt sich in den Ergebnissen eine Tendenz zu erhöhten Syndecan-1-Konzentrationen ohne statistische Signifikanz. Zum Zeitpunkt bei Ankunft im Schockraum zeigen die Patienten mit gestörter Gerinnung niedrigere Syndecan-1-Konzentrationen als die Patienten mit normaler Gerinnung. Syndecan-1 scheint also nicht als Auto-Antikoagulanzen zu wirken. Ein weiterer Anstieg der Syndecan-1-Werte lässt sich mit dem prolongierten Schockzustand vereinbaren und beinhaltet die Entwicklung einer prolongierten Koagulopathie. Ähnlich ist es bei der erfolgten Massentransfusion. Eine verminderte Gerinnung ist nach einer Studie von Balendran et al. ein prognostischer Faktor für eine zu erwartende Massentransfusion sowie eine erhöhte Mortalität [132]. Dies lässt sich zum Einen durch den Blutverlust durch das Trauma und die meist folgende Volumengabe mit einer Dilution und zum anderen durch den Verbrauch der Gerinnungsfaktoren durch die Verletzungen und die folgende Aktivierung der Gerinnungskaskade erklären [126–128]. Im Rahmen der Gewebsverletzung wird durch das Shedding vermehrt Syndecan-1 freigesetzt [66, 73–77], dessen Konzentration wiederum mit dem Überleben korreliert. So kann indirekt auf einen Zusammenhang mit der Gerinnungssituation des Patienten geschlossen werden.

5.3.2 Korrelation der Serumkonzentrationen von Hyaluronan mit klinischen Parametern

Die Hyaluronankonzentrationen nach 12 Stunden korrelieren in dieser Studie mit dem MOF. Einen ähnlichen Zusammenhang gibt es bei den Syndecan-1-Werten nach 6 Stunden, die ebenfalls mit dem MOF korrelieren. Somit ergibt sich auch hier ein Zusammenhang mit der Entwicklung eines Multiorganversagens und somit auch einer Verschlechterung des Outcomes, da hier die Mortalität auf 30 – 80% je nach Anzahl der betroffenen Organe ansteigt [39, 43, 44].

Hinsichtlich des Überlebens und des ISS gibt es keinen signifikanten Zusammenhang. In ähnlichen Studien zeigen sich eine Korrelation mit dem ISS [99] sowie eine Korrelation von hohen Hyaluronan-Werten mit dem Outcome bei Sepsis [140]. Somit gibt es Hinweise, dass ein Anstieg von Hyaluronan im zeitlichen Verlauf mit dem Outcome nach Polytraumatisierung in Zusammenhang zu bringen ist. Dies wird durch die Hypothese bekräftigt, die Hyaluronan als

pro-inflammatorischen Mediator betrachtet und somit eine überschießende Immunreaktion als Traumafolge weiter bekräftigt [63].

Die Gewebeverletzung ist der Hauptmechanismus beim Polytrauma. Somit ist der Quick ein idealer Parameter zum Gerinnungsmonitoring. Es besteht eine Korrelation zwischen dem Konzentrationsanstieg von Hyaluronan zum Zeitpunkt 12h und dem verminderten Quick. Die Patienten mit einem initial verminderten Quick bei 0h haben somit im Verlauf ein verstärktes Shedding mit einer erhöhten Freisetzung von Hyaluronan. Dies gilt ebenso für die Ergebnisse zum Parameter Massentransfusion. Da im Rahmen einer Massentransfusion von einer höheren Verletzungsschwere mit entsprechendem Blutverlust mit prolongiertem Schockgeschehen auszugehen ist, lässt sich dieses Ergebnis gut mit der Studie von Rahbar et al. in Einklang bringen [99]. Hier wird Hyaluronan als Indikator für eine Gewebsverletzung postuliert, da er als Endothelmarker am stärksten mit dem ISS korreliert. Da der ISS wiederum die Verletzungsschwere widerspiegelt ist somit von einer entsprechend großen Gewebsverletzung auszugehen, wodurch die Freisetzung des Glykokalix-Bestandteils begünstigt wird [63, 79, 81]. In einer Studie nach Holcomb et al. aus dem Jahr 2015 wurde das Verhältnis von Fresh Frozen Plasma (FFP) zu Thrombozytenkonzentraten (TK) zu Erythrozytenkonzentraten (EK) untersucht. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied von Verhältnis 1:1:1 zu 1:1:2 hinsichtlich der Mortalität nach 24 h und 30 Tagen. Beim Verhältnis FFP zu TK zu EK von 1:1:1 konnte eine schnellere Kreislaufstabilisierung und eine verminderte Gefahr des Verblutens in den ersten 24 h festgestellt werden [165].

5.4 Ausblick und Therapieansätze

Die Schädigung der Glykokalix ist ein zentraler Faktor bei der Immunreaktion nach Trauma sowie Sepsis und MOF [95]. Aufgrund der Komplexität und der bisher noch nicht vollständig verstandenen Schädigungsmechanismen bietet sich ein neuer Angriffspunkt hinsichtlich der Therapie bei derart lebensbedrohlichen Situationen [166].

Bei der Sepsis zeigen sich bereits neue Behandlungsmethoden. So bietet die Substitution von Insulin bei Hyperglykämie bzw. die Gabe von Metformin mit Aktivierung von AMP-aktivierter Proteinkinase Schutz vor Organversagen und Entzündungsreaktionen in Mäusen. Des Weiteren ist der Lactatanstieg ein möglicher Parameter, da dieser zusätzlich oxidativen Stress verursacht und somit die Glykokalix weiter schädigt [25, 167].

In anderen Studien konnte gezeigt werden, dass eine Hyperglykämie sowie eine Hypercholesterinämie die Dicke der Glykokalix reduzieren und die Substitution von Insulin, wie bereits beschrieben, der Protektion der Glykokalix dient [63].

Weitere Therapieoptionen in Studien der vergangenen Jahre waren sowohl Doxycyclin als auch Sphingosin-1-Phosphat, welche das Shedding der Glykokalix aktiv verhindern konnten [63, 104, 105], [63, 168, 169]. Eine ähnliche Eigenschaft besitzt ebenso das Albumin, das zudem die Adhäsion von Leukozyten verhindert [64, 69, 170]. Wie bereits zuvor beschrieben interagiert Hyaluronan mit CD44, gefolgt von einer Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten. Hier wird die Hemmung dieser Interaktion als möglicher Therapieansatz zur Unterdrückung der inflammatorischen Reaktion diskutiert [91, 171].

Eine weitere Möglichkeit stellen Infusionen mit Hyaluronan & Chondroitinsulfat dar. In Versuchen mit Hamstern konnte die zuvor mit Hyaluronidase geschädigte Glykokalix regeneriert werden [172]. Wobei zu beachten ist, dass Hyaluronan auch als DAMP fungieren kann und somit einen

negativen Effekt haben könnte. Hier kann diskutiert werden, ob das Molekulargewicht für einen negativen oder positiven Wirkmechanismus auf die Glykokalix entscheidend ist.

Eine weitere wichtige Rolle spielt das Zytokin TNF-alpha, das aufgrund der Induktion einer Entzündungsreaktion die Glykokalix ebenfalls weiter schädigt [173, 174]. Eine mögliche Therapieoption ist somit der analoge TNF-alpha-Rezeptor Etanercept, der das Glykokalix-Shedding reduziert und sowohl die Gerinnung aktiviert als auch die Gefäßfunktion stabilisiert [64, 66, 175].

Die verschiedenen Therapieansätze zum Schutz der Glykokalix als zentrales Element der Immunreaktion bieten vielversprechende Chancen zu weiterer Verbesserung bzw. Steigerung des Outcomes nach Trauma, Sepsis und MOF.

6 Zusammenfassung

Das Polytrauma ist in Deutschland bei den unter 40-Jährigen die häufigste Todesursache [2, 3]. Trotz der stetigen Weiterentwicklung der Behandlungsmöglichkeiten und Therapieansätze bleibt die Mortalität bei Polytrauma mit 10,5% hoch und konnte im Verlauf der letzten 10 Jahre nur um 0,5% gesenkt werden [4]. Eine ähnliche Situation stellt sich bei der Entwicklung eines MOF dar. Hier konnte innerhalb von 10 Jahren die Inzidenz von 22% auf 20% gesenkt werden [4]. Dies ist ein Schritt in die richtige Richtung, bei einer erhöhten Mortalität im Rahmen eines MOF von 30 – 80 % aber noch nicht ausreichend [43, 44].

Im Rahmen vieler Studien und auch in dieser Arbeit zeigt sich die Glykokalix als zentraler Faktor eines Traumas bzw. bei SIRS, Sepsis und MOF. Deren Schädigung gilt nicht nur als Prognosefaktor für das Outcome, sondern stellt darüber hinaus auch die Grundlage und den Angriffspunkt neuer Therapieoptionen dar [95, 167–175].

In der vorliegenden Arbeit wurden die Serumkonzentrationen der Glykokalixbestandteile Syndecan-1 und Hyaluronan im zeitlichen Verlauf nach Polytrauma untersucht, welche wie bereits in vielen Studien beschrieben, ein Ausmaß für Glykokalixschädigung darstellen [66, 73–77].

Insgesamt wurden 49 Patienten in die Studie eingeschlossen. Maßgeblich war der ISS mit ≥ 16 Punkten. Die erste Blutentnahme erfolgte direkt im Schockraum innerhalb von 90 Minuten nach Trauma, im Weiteren folgten dann im 6h- und 12h-Intervall die anderen Abnahmen. Zur Bestimmung der Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan wurden die Serumproben entsprechend asserviert und die Messungen mittels ELISA durchgeführt. Primärer Outcomeparameter war der modifizierte MOF-Score, sekundär untersuchte klinische Parameter waren Überleben, Verletzungsschwere in Form des ISS, Massentransfusion und Gerinnung (Quick).

Im zeitlichen Verlauf über die ersten 12 Stunden nach Trauma konnte ein signifikanter Anstieg der Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan nachgewiesen werden. Dies spiegelt die traumabedingte Verletzung des Gewebes mit einem entsprechenden Shedding der Glykokalix wieder. Die freigesetzten Glykokalixbestandteile bzw. die Schädigung haben einen großen Einfluss auf die Immunreaktion und auf das Gerinnungssystem [63, 64, 96, 97].

Zudem zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von Syndecan-1 bei der 12h-Messung und dem Überleben. Somit zeigen die erhöhten Syndecan-1-Werte eine entsprechend ausgedehnte Schädigung der Glykokalix, die mit einer höheren Mortalität einhergeht.

Hinsichtlich der Verletzungsschwere, für die der ISS als Parameter verwendet wurde, ergab sich weder bei Syndecan-1 noch bei Hyaluronan ein signifikanter Zusammenhang.

Bei Hyaluronan war die Serumkonzentration bei der 12h-Messung mit der initialen Gerinnung und der Massentransfusion signifikant. Diese Effekte können durch eventuell ausgedehntere Gewebetraumen, die sich nicht zwangsweise in einem größeren ISS Scoring widerspiegeln, mitbedingt sein.

Die Parameter, die in dieser Arbeit für die Ergebnisse verwendet wurde, dürfen keinesfalls isoliert betrachtet werden, da es eine ausgeprägte Interaktion zwischen den jeweiligen Faktoren gibt. So steht die Verletzungsschwere mit einem entsprechend hohen Blutverlust und einer darauffolgenden Transfusion bzw. Massentransfusion und der Gerinnung in Zusammenhang ebenso wie die Entwicklung eines Multiorganversagens mit der erhöhten Mortalität. Dies beeinflusst wiederum das Outcome bzw. Überleben, das einen zentralen Aspekt der aktuellen Traumaforschung darstellt.

Insofern können durch die vorliegende Arbeit unsere eingangs gestellter Fragestellungen wie folgt beantwortet werden:

- der Anstieg der Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan ist im zeitlichen Verlauf der ersten 12 Stunden nach Polytrauma signifikant,
- erhöhte Syndecan-1-Konzentrationen korrelieren mit dem Versterben der Patienten vor allem in den ersten Stunden nach dem Unfall,
- es besteht kein Zusammenhang von erhöhten Serumkonzentrationen mit einer erhöhten Verletzungsschwere (ISS),
- eine verminderte Gerinnung korreliert mit einer erhöhten Hyaluronankonzentration bei der 12h-Abnahme,
- Massentransfusionen und erhöhte Hyaluronankonzentrationen nach 12 Stunden zeigten sich signifikant ebenso wie
- die Serumkonzentrationen von Syndecan-1 bei der 6h-Messung und Hyaluronan bei der 12h-Messung mit der Entwicklung eines Multiorganversagens im Vergleich zu Patienten ohne ein MOF .

Zusammenfassend zeigt sich in der vorliegenden Arbeit, dass erhöhte Serumkonzentrationen der Glykokalixbestandteile Syndecan-1 und Hyaluronan mit einem schlechteren Outcome und einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines Multiorganversagens einhergehen. Zudem konnte der Zusammenhang zwischen der dynamischen Entwicklung der Serumkonzentrationen mit einer beeinträchtigten Blutgerinnung und durchgeführter Massentransfusion nachgewiesen werden.

Es lässt sich somit schlussfolgern, dass schwerer verletzte Patienten mit erhöhten Serumkonzentrationen von Glykokalixbestandteilen somit ein erhöhtes Shedding der Glykokalix im Verlauf aufzeigen und durch die bereits bekannten und gemonitorten Parameter eine verminderte Blutgerinnung und ein erhöhtes Risiko für eine Massentransfusion sowie insbesondere für die Entwicklung eines MOF innehaben und schließlich das Outcome dieser Patienten möglicherweise entscheidend beeinflusst wird. Wir sehen in unseren Ergebnissen Hinweise auf einen für die Pathophysiologie der posttraumatischen Destabilisierung nach Polytrauma relevanten Mechanismus, der Gegenstand weiterer Untersuchungen sein sollte.

7 Literatur

- 1 *Com L'I.* 18201_RoadSafety English Summary For Web.pdf. Im Internet: apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/277370/WHO-NMH-NVI-18.20-eng.pdf?ua=1; Stand: 24.03.2019
- 2 *Bardenheuer M, Obertacke U, Waydhas C et al.* Epidemiologie des Schwerverletzten Eine prospektive Erfassung der präklinischen und klinischen Versorgung. Unfallchirurg 2000; 103 (5): 355–363
- 3 *Lefering R, Paffrath T, Nienaber U.* Das TraumaRegister DGU® als Datenquelle für das Monitoring schwerer Unfallverletzungen. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 2014; 57 (6): 660–665
- 4 TR-DGU-Jahresbericht_2017
- 5 *Butcher NE, Balogh ZJ.* Update on the definition of polytrauma. Eur J Trauma Emerg Surg 2014; 40 (2): 107–111
- 6 *Paffrath T, Lefering R, Flohé S.* How to define severely injured patients? -- an Injury Severity Score (ISS) based approach alone is not sufficient. Injury 2014; 45 Suppl 3: 9
- 7 *Fröhlich M, Lefering R, Probst C et al.* Epidemiology and risk factors of multiple-organ failure after multiple trauma: an analysis of 31,154 patients from the TraumaRegister DGU. J Trauma Acute Care Surg 2014; 76 (4): 921
- 8 *Giannoudis PV, Tosounidis TI, Kanakaris NK et al.* Quantification and characterisation of endothelial injury after trauma. Injury 2007; 38 (12): 1373–1381
- 9 *Butcher N, Balogh ZJ.* AIS2 in at least two body regions: a potential new anatomical definition of polytrauma. Injury 2012; 43 (2): 196–199
- 10 *Butcher NE, D'Este C, Balogh ZJ.* The quest for a universal definition of polytrauma: A trauma registry-based validation study. J Trauma Acute Care Surg 2014; 77 (4): 620–623
- 11 *Copes W.S., Lawnick M.M., Champion H.R. et al.* A comparison of abbreviated injury scale 1980 and 1985. The Journal of Trauma 1988; 28 (1)

- 12 *Ringdal KG, Hestnes M, Palmer CS.* Differences and discrepancies between 2005 and 2008 Abbreviated Injury Scale versions - time to standardise. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2012; 20: 11
- 13 *Butcher NE, D'Este C, Balogh ZJ.* The quest for a universal definition of polytrauma: a trauma registry-based validation study. *J Trauma Acute Care Surg* 2014; 77 (4): 620–623
- 14 *Pape H-C, Lefering R, Butcher N et al.* The definition of polytrauma revisited: An international consensus process and proposal of the new 'Berlin definition'. *J Trauma Acute Care Surg* 2014; 77 (5): 780–786
- 15 *Rau C-S, Wu S-C, Kuo P-J et al.* Polytrauma Defined by the New Berlin Definition: A Validation Test Based on Propensity-Score Matching Approach. *Int J Environ Res Public Health*; DOI: 10.3390/ijerph14091045
- 16 *de TD*t@a-o.* 20 years TraumaRegister DGU(®): development, aims and structure. *Injury* 2014; 45 Suppl 3: S6-S13
- 17 *Oestern H-J, Nast-Kolb D, Pape H-C et al.* Gegenwärtiger Stand der Traumadokumentation in Deutschland. *Notfall & Rettungsmedizin* 2000; 3 (3): 151–155
- 18 *Ruchholtz S.* Das Traumaregister der DGU als Grundlage des interklinischen Qualitätsmanagements in der Schwerverletztenversorgung. *Der Unfallchirurg* 2000; 103 (1): 30–37
- 19 *Ruchholtz S, Nast-Kolb D, Waydhas C et al.* Das Traumaregister der AG ‚Polytrauma‘ der D. G. U. als Grundlage des Qualitätsmanagements in der Schwerverletztenversorgung. In: Hartel W, Hrsg. *Klinik und Forschung in der Chirurgie unter dem Aspekt von Effizienz und Ökonomie.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1997: 1265–1267
- 20 *Zintl B, Ruchholtz S, Nast-Kolb D et al.* Quality management in the early care of patients with multiple injuries. *Der Unfallchirurg* 1997; 100 (10): 811–819
- 21 *Hilbert P, Lefering R, Stuttmann R.* Trauma care in Germany: major differences in case fatality rates between centers. *Dtsch Arztebl Int* 2010; 107 (26): 463–469
- 22 *Giannoudis PV, Harwood PJ, Court-Brown C et al.* Severe and multiple trauma in older patients; incidence and mortality. *Injury* 2009; 40 (4): 362–367

- 23 Lenz A, Franklin GA, Cheadle WG. Systemic inflammation after trauma. *Injury* 2007; 38 (12): 1336–1345
- 24 Rotstein OD. Modeling the two-hit hypothesis for evaluating strategies to prevent organ injury after shock/resuscitation. *The Journal of Trauma* 2003; 54 (5 Suppl): S203-6
- 25 Keel M, Trentz O. Pathophysiology of polytrauma. *Injury* 2005; 36 (6): 691–709
- 26 Davies M.G., Hagen P.-O. Systemic inflammatory response syndrome. *British Journal of Surgery* 1997; 84: 920–935
- 27 Goris RJA. Multiple-Organ Failure. *Arch Surg* 1985; 120 (10): 1109
- 28 Bone RC, Balk RA, Cerra FB et al. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* 1992; 101 (6): 1644–1655
- 29 Singer M, Deutschman CS, Seymour CW et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315 (8): 801–810
- 30 Griffiths B, Anderson ID. Sepsis, SIRS and MODS. *Surgery (Oxford)* 2009; 27 (10): 446–449
- 31 Kaukonen K-M, Bailey M, Pilcher D et al. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (17): 1629–1638
- 32 Comstedt P, Storgaard M, Lassen AT. The Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in acutely hospitalised medical patients: A cohort study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2009; 17 (1): 67
- 33 Knaus W.A., Sun X., Nystrom P.-O. et al. Evaluation of definitions for sepsis. *Chest* 1992; 101: 1656–1662
- 34 Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP et al. APACHE - acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Crit. Care Med.* 1981; 9 (8): 591–597
- 35 Wagner D, Draper EA, Knaus WA. Chapter 5. Development of APACHE III. *Crit. Care Med.* 1989; (12): 199–203
- 36 Tsukamoto T, Chanthaphavong RS, Pape H-C. Current theories on the pathophysiology of multiple organ failure after trauma. *Injury* 2010; 41 (1): 21–26
- 37 Dewar D, Moore FA, Moore EE et al. Postinjury multiple organ failure. *Injury* 2009; 40 (9): 912–918

- 38 *Hietbrink F, Koenderman L, Rijkers GT et al.* Trauma: the role of the innate immune system. *World J Emerg Surg* 2006; 1 (1): 15
- 39 *Knaus WA, Draper EA, Wagner DP et al.* Prognosis in acute organ-system failure. *Ann. Surg.* 1985; 202 (6): 685–693
- 40 *Goris RJ, te Boekhorst TP, Nuytinck JK et al.* Multiple-organ failure. Generalized autodestructive inflammation? *Arch Surg* 1985; 120 (10): 1109–1115
- 41 *Lefering R, Goris RJA, van Nieuwenhoven EJ et al.* Revision of the multiple organ failure score. *Langenbecks Arch Surg* 2002; 387 (1): 14–20
- 42 *Ciesla DJ, Moore EE, Johnson JL et al.* A 12-year prospective study of postinjury multiple organ failure: has anything changed? *Arch Surg* 2005; 140 (5): 432
- 43 *Baue AE, Durham RM, Faist E.* Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS), Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS), Multiple Organ Failure (MOF): Are we winning the battle? *SHOCK* 1998; (2): 79–89
- 44 *W. Knaus, E. Draper, D. Wagner et al.* Prognosis in Acute Organ-System Failure
- 45 *Ciriello V, Gudipati S, Stavrou PZ et al.* Biomarkers predicting sepsis in polytrauma patients: Current evidence. *Injury* 2013; 44 (12): 1680–1692
- 46 *Giannoudis PV, Hildebrand F, Pape HC.* Inflammatory serum markers in patients with multiple trauma. *J Bone Joint Surg (Br)* 2004; 86 (3): 313–323
- 47 *Palud A, Parmentier-Decrucq E, Pastre J et al.* Evaluation of endothelial biomarkers as predictors of organ failures in septic shock patients. *Cytokine* 2015; 73 (2): 213–218
- 48 *Kubli S., Boegli Y., Ave A. D. et al.* Endothelium-Dependent Vasodilation in the Skin Microcirculation of Patients with Septic Shock. *SHOCK* 2003; (19): 274–280
- 49 *Backer D de, Orbegoza Cortes D, Donadello K et al.* Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence* 2014; 5 (1): 73–79
- 50 *Backer D de.* Detailing the cardiovascular profile in shock patients. *Crit Care* 2017; 21 (Suppl 3): 311
- 51 *Ahmed N., Christou N.* Systemic Inflammatory Response Syndrome: Interactions between Immune Cells and the Endothelium. *SHOCK* 1996; (6): 39–42

- 52 *P. Feindt, F. Harig, M. Weyand.* Empfehlungen zum Einsatz und zur Verwendung von Herz-Lungen-Maschinen. Springer; 2006
- 53 *Rimmelé T, Payen D, Cantaluppi V et al.* IMMUNE CELL PHENOTYPE AND FUNCTION IN SEPSIS. Shock 2016; 45 (3): 282–291
- 54 *Brøchner A, Toft P.* Pathophysiology of the systemic inflammatory response after major accidental trauma. Scand J Trauma Resusc Emerg Med 2009; 17 (1): 43
- 55 *Tolsma V, Schwebel C, Azoulay E et al.* Sepsis severe or septic shock: outcome according to immune status and immunodeficiency profile. Chest 2014; 146 (5): 1205–1213
- 56 *Hotchkiss RS, Karl IE.* The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. N Engl J Med 2003; 348 (2): 138–150
- 57 *Bone RC.* Immunologic Dissonance: A Continuing Evolution in Our Understanding of the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) and the Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS). Ann Intern Med 1996; 125 (8)
- 58 *Zuidema MY, Zhang C.* Ischemia/reperfusion injury: The role of immune cells. World J Cardiol 2010; 2 (10): 325–332
- 59 *Rodrigues SF, Granger DN.* Role of blood cells in ischaemia-reperfusion induced endothelial barrier failure. Cardiovasc Res 2010; 87 (2): 291–299
- 60 *Becker BF, Chappell D, Jacob M.* Endothelial glycocalyx and coronary vascular permeability: The fringe benefit; 2010
- 61 *Tarbell JM, Cancel LM.* The glycocalyx and its significance in human medicine; 2016
- 62 *Bundgaard M.* The three-dimensional organization of tight junctions in a capillary endothelium revealed by serial-section electron microscopy. J Ultrastruct Res 1984; 88 (1): 1–17
- 63 *Kolářová H, Ambrůzová B, Svihálková Šindlerová L et al.* Modulation of endothelial glycocalyx structure under inflammatory conditions. Mediators Inflamm. 2014; 2014: 694312
- 64 *Becker BF, Chappell D, Bruegger D et al.* Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential. Cardiovasc. Res. 2010; 87 (2): 300–310

- 65 *Weinbaum S, Zhang X, Han Y et al.* Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003; 100 (13): 7988–7995
- 66 *Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P et al.* Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Crit Care* 2015; 19: 26
- 67 *Tarbell JM, Pahakis MY.* Mechanotransduction and the glycocalyx. *J. Intern. Med.* 2006; 259 (4): 339–350
- 68 *Burke-Gaffney A, Evans TW.* Lest we forget the endothelial glycocalyx in sepsis. *Crit Care* 2012; 16 (2): 121
- 69 *Becker BF, Jacob M, Leipert S et al.* Degradation of the endothelial glycocalyx in clinical settings: searching for the sheddases. *Br J Clin Pharmacol*; DOI: 10.1111/bcp.12629
- 70 *Reitsma S, Slaaf DW, Vink H et al.* The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch.* 2007; 454 (3): 345–359
- 71 *Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P.* The endothelial surface layer. *Pflügers Arch - Eur J Physiol* 2000; 440 (5): 653–666
- 72 *Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER.* The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng* 2007; 9: 121–167
- 73 *Halbgebauer R, Braun CK, Denk S et al.* Hemorrhagic shock drives glycocalyx, barrier and organ dysfunction early after polytrauma. *J Crit Care* 2018; 44: 229–237
- 74 *Johansson PI, Stensballe J, Rasmussen LS et al.* A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients. *Ann. Surg.* 2011; 254 (2): 194–200
- 75 *Pohlman TH, Walsh M, Aversa J et al.* Damage control resuscitation. *Blood Rev.*; DOI: 10.1016/j.blre.2014.12.006
- 76 *Johansson PI, Haase N, Perner A et al.* Association between sympathoadrenal activation, fibrinolysis, and endothelial damage in septic patients: a prospective study. *J Crit Care* 2014; 29 (3): 327–333
- 77 *Grundmann S, Fink K, Rabadzhieva L et al.* Perturbation of the endothelial glycocalyx in post cardiac arrest syndrome. *Resuscitation* 2012; 83 (6): 715–720

- 78 *Gonzalez E, Moore EE, Moore HB et al.* Syndecan-1 a Marker of Endothelial Injury is Associated with Increased Blood Product Requirement and Poor Outcomes in Trauma Patients. *Journal of Surgical Research* 2014; 186 (2): 588–589
- 79 *Nelson A, Berkestedt I, Schmidtchen A et al.* Increased levels of glycosaminoglycans during septic shock: relation to mortality and the antibacterial actions of plasma. *Shock* 2008; 30 (6): 623–627
- 80 *Ostrowski SR, Pedersen SH, Jensen JS et al.* Acute myocardial infarction is associated with endothelial glycocalyx and cell damage and a parallel increase in circulating catecholamines. *Crit Care* 2013; 17 (1): R32
- 81 *Henrich M, Gruss M, Weigand MA.* Sepsis-induced degradation of endothelial glycocalix. *ScientificWorldJournal* 2010; 10: 917–923
- 82 *Steppan J, Hofer S, Funke B et al.* Sepsis and Major Abdominal Surgery Lead to Flaking of the Endothelial Glycocalix. *Journal of Surgical Research* 2011; 165 (1): 136–141
- 83 *Pierce A, Pittet J-F.* Inflammatory response to trauma: implications for coagulation and resuscitation. *Curr Opin Anaesthesiol* 2014; 27 (2): 246–252
- 84 *Savery MD, Jiang JX, Park PW et al.* The endothelial glycocalyx in syndecan-1 deficient mice. *Microvasc Res* 2013; 87: 83–91
- 85 *Kozar RA, Pati S.* Syndecan-1 restitution by plasma after hemorrhagic shock. *J Trauma Acute Care Surg* 2015; 78 (6 Suppl 1): 6
- 86 *Hayashida K, Parks WC, Park PW.* Syndecan-1 shedding facilitates the resolution of neutrophilic inflammation by removing sequestered CXC chemokines. *Blood* 2009; 114 (14): 3033–3043
- 87 *Angsana J, Chen J, Smith S et al.* Syndecan-1 modulates the motility and resolution responses of macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015; 35 (2): 332–340
- 88 *Jiang D, Liang J, Noble PW.* Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2007; 23: 435–461
- 89 *Lennon FE, Singleton P. A.* Hyaluronan regulation of vascular integrity. *Ann J Cardiovasc Dis* 2011; 1 (3): 200–213

- 90 *Jiang D, Liang J, Noble PW.* Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol. Rev.* 2011; 91 (1): 221–264
- 91 *McDonald B, Kubes P.* Interactions between CD44 and Hyaluronan in Leukocyte Trafficking. *Front Immunol* 2015; 6: 68
- 92 *Tuma M, Canestrini S, Alwahab Z, Marshall J.* Trauma and Endothelial Glycocalyx: The Microcirculation Helmet?; 2016
- 93 *Anneck T, Fischer J, Hartmann H et al.* Shedding of the coronary endothelial glycocalyx: effects of hypoxia/reoxygenation vs ischaemia/reperfusion. *Br J Anaesth* 2011; 107 (5): 679–686
- 94 *Becker BF, Fischer J, Hartmann H et al.* Inosine, not adenosine, initiates endothelial glycocalyx degradation in cardiac ischemia and hypoxia. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2011; 30 (12): 1161–1167
- 95 *Chappell D, Westphal M, Jacob M.* The impact of the glycocalyx on microcirculatory oxygen distribution in critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009; 22 (2): 155–162
- 96 *Ostrowski SR, Haase N, Müller RB et al.* Association between biomarkers of endothelial injury and hypocoagulability in patients with severe sepsis: A prospective study. *Crit Care* 2015; 19: 191
- 97 *Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M et al.* Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 83 (3): 536–545
- 98 *Ostrowski SR, Johansson PI.* Endothelial glycocalyx degradation induces endogenous heparinization in patients with severe injury and early traumatic coagulopathy. *J Trauma Acute Care Surg* 2012; 73 (1): 60–66
- 99 *Rahbar E, Cardenas JC, Baimukanova G et al.* Endothelial glycocalyx shedding and vascular permeability in severely injured trauma patients. *J Transl Med* 2015; 13: 117
- 100 *Zakaria ER, Garrison RN, Spain DA et al.* Impairment of Endothelium-Dependent Dilation Response After Resuscitation from Hemorrhagic Shock Involved Postreceptor Mechanisms. *SHOCK* 2004; 21 (2): 175–181

- 101 *Vassiliou AG, Mastora Z, Orfanos SE et al.* Elevated biomarkers of endothelial dysfunction/activation at ICU admission are associated with sepsis development. *Cytokine* 2014; 69 (2): 240–247
- 102 *Hazeldine J, Hampson P, Lord JM.* The impact of trauma on neutrophil function. *Injury* 2014; 45 (12): 1824–1833
- 103 *Chawla LS, Fink M, Goldstein SL et al.* THE EPITHELIUM AS A TARGET IN SEPSIS. *Shock* 2016; 45 (3): 249–258
- 104 *Mulivor AW, Lipowsky HH.* Inhibition of Glycan Shedding and Leukocyte-Endothelial Adhesion in Postcapillary Venules by Suppression of Matrixmetalloprotease Activity with Doxycycline. *Microcirculation* 2009; 16 (8): 657–666
- 105 *Lipowsky HH.* The endothelial glycocalyx as a barrier to leukocyte adhesion and its mediation by extracellular proteases. *Ann Biomed Eng* 2012; 40 (4): 840–848
- 106 *Ostrowski SR, Berg RMG, Windeløv NA et al.* Coagulopathy, catecholamines, and biomarkers of endothelial damage in experimental human endotoxemia and in patients with severe sepsis: a prospective study. *J Crit Care* 2013; 28 (5): 586–596
- 107 *Ince C, Mayeux PR, Nguyen T et al.* THE ENDOTHELIUM IN SEPSIS. *SHOCK* 2016; 45 (3): 259–270
- 108 *Prengel P.* S3-Leitlinie Polytrauma/Schwerverletzten-Behandlung
- 109 *Baker SP, O'Neill B, Haddon W et al.* The injury severity score: a method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care. *The Journal of Trauma* 1974; 14 (3): 187–196
- 110 *Boyd C., Tolson M.A., Copes W.S.* Evaluating trauma care: the TRISS method. *The Journal of Trauma* 1987; 27 (4): 370–378
- 111 *Greenspan L., McLellan B., Greig H.* Abbreviated injury scale and injury severity score: a scoring chart. *The Journal of Trauma* 1985; 25 (1): 60–64
- 112 *Russell R, Halcomb E, Caldwell E et al.* Differences in Mortality Predictions Between Injury Severity Score Triplets: A Significant Flaw. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care* 2004; 56 (6): 1321–1324

- 113 *Civil I.D., Schwab W.* The abbreviated injury scale, 1985 revision: a condensed chart for clinical use. *The Journal of Trauma* 1988; 28 (1)
- 114 Rating the Severity of Tissue Damage: The abbreviated scale. *JAMA* 1971; 215 (2): 277
- 115 *Baker SP, O'Neill B.* The injury severity score: an update. *The Journal of Trauma* 1976; 16 (11): 882–885
- 116 *Champion H.R., Copes W.S., Sacco W.J. et al.* The major trauma outcome study: establishing national norms for trauma care. *The Journal of Trauma* 1990; 30 (11)
- 117 *Lecky F, Woodford M, Edwards A et al.* Trauma scoring systems and databases. *Br J Anaesth* 2014; 113 (2): 286–294
- 118 *Eiseman B, Beart R, Norton L.* Multiple organ failure. *Surg Gynecol Obstet* 1977; 144 (3): 323–326
- 119 *Baue AE.* MOF, MODS, and SIRS: what is in a name or an acronym? *Shock* 2006; 26 (5): 438–449
- 120 *Sauaia A, Moore EE, Johnson JL et al.* Validation of postinjury multiple organ failure scores. *Shock* 2009; 31 (5): 438–447
- 121 *Durham RM, Moran JJ, Mazuski JE et al.* Multiple organ failure in trauma patients. *J Trauma* 2003; 55 (4): 608–616
- 122 *Moore FA, Sauaia A, Moore EE et al.* Postinjury multiple organ failure: a bimodal phenomenon. *J Trauma* 1996; 40 (4): 501
- 123 *Baue AE.* MOF/MODS, SIRS: an update. *Shock* 1996; (6): 81–85
- 124 *Grotz M, v. Griensen M., Stalp M et al.* Scoring des Multiorganversagens nach schwerem Trauma: Vergleich des Goris-, Marshall- und Moore-Scores. *Der Chirurg* 2001; (72): 723–730
- 125 TR-DGU-Jahresbericht_2015
- 126 *Caspers M, Schäfer N, Fröhlich M et al.* How do external factors contribute to the hypocoagulative state in trauma-induced coagulopathy? - In vitro analysis of the lethal triad in trauma. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2018; 26 (1): 66
- 127 *Hanke AA, Rahe-Meyer N.* Traumainduzierte Koagulopathie. *Der Unfallchirurg* 2014; 117 (2): 95–98

- 128 *Kushimoto S, Kudo D, Kawazoe Y.* Acute traumatic coagulopathy and trauma-induced coagulopathy: An overview. *J intensive care* 2017; 5 (1): e442
- 129 *Schlömmel C, Meier J.* Traumaassoziierte Koagulopathie: Pathophysiologie und Therapie. *Anästhesiologische Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie* 2019; (54): 413–423
- 130 *Lord JM, Midwinter MJ, Chen Y-F et al.* The systemic immune response to trauma: An overview of pathophysiology and treatment. *The Lancet* 2014; 384 (9952): 1455–1465
- 131 *Aggeler PM, Howard J, Lucia, S.P.: Clark, William et al.* STANDARDIZATION OF THE QUICK PROTHROMBIN TEST :: WITH REFERENCE TO THE STATISTICAL SIGNIFICANCE OF VARIATIONS IN THE PROTHROMBIN CONCENTRATION WITH USE OF A STABLE THROMBOPLASTIN OF HIGH POTENCY. *Blood* 1946; (1): 220–233
- 132 *Balendran CA, Lövgren A, Hansson KM et al.* Prothrombin time is predictive of low plasma prothrombin concentration and clinical outcome in patients with trauma hemorrhage: Analyses of prospective observational cohort studies. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2017; 25 (1): 30
- 133 *Como JJ, Dutton RP, Scalea TM et al.* Blood transfusion rates in the care of acute trauma. *Transfusion* 2004; 44 (6): 809–813
- 134 *Vernon T, Morgan M, Morrison C.* Bad blood: A coagulopathy associated with trauma and massive transfusion review. *Acute Med Surg* 2019; 6 (3): 215–222
- 135 *Grottke O, Frietsch T, Maas M et al.* Handlungsempfehlung - Umgang mit Massivblutungen und assoziierten perioperativen Gerinnungsstörungen* März 2013 | DGAInfo. *Anästhesiologische Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie* 2013; (54): 147–157
- 136 *Patil V, Shetmahajan M.* Massive transfusion and massive transfusion protocol. *Indian J Anaesth* 2014; 58 (5): 590–595
- 137 *Pham HP, Shaz BH.* Update on massive transfusion. *Br J Anaesth* 2013; 111 Suppl 1: i71-82
- 138 *Sousa A, Raposo F, Fonseca S et al.* Measurement of cytokines and adhesion molecules in the first 72 hours after severe trauma: association with severity and outcome. *Dis. Markers* 2015; 2015: 747036

- 139 *Trentzsch H, Nienaber U, Behnke M et al.* Female sex protects from organ failure and sepsis after major trauma haemorrhage. *Injury* 2014; 45 Suppl 3: 8
- 140 *Anand D, Ray S, Srivastava LM et al.* Evolution of serum hyaluronan and syndecan levels in prognosis of sepsis patients. *Clin Biochem* 2016; 49 (10-11): 768–776
- 141 *Bose D, Tejawani NC.* Evolving trends in the care of polytrauma patients. *Injury* 2006; 37 (1): 20–28
- 142 *Gruen RL, Brohi K, Schreiber M et al.* Haemorrhage control in severely injured patients. *The Lancet* 2012; 380 (9847): 1099–1108
- 143 *Rice TW, Morris S, Tortella BJ et al.* Deviations from evidence-based clinical management guidelines increase mortality in critically injured trauma patients*. *Crit. Care Med.* 2012; 40 (3): 778–786
- 144 *Torres LN, Sondeen JL, Dubick MA et al.* Systemic and microvascular effects of resuscitation with blood products after severe hemorrhage in rats. *J Trauma Acute Care Surg* 2014; 77 (5): 716–723
- 145 *Torres LN, Sondeen JL, Ji L et al.* Evaluation of resuscitation fluids on endothelial glycocalyx, venular blood flow, and coagulation function after hemorrhagic shock in rats. *J Trauma Acute Care Surg* 2013; 75 (5): 759–766
- 146 *Löwer J.* Bekanntmachung des Paul-Ehrlich-Instituts über die Ergebnisse des Stufenplanverfahrens zur Einführung der Leukozytendepletion von zellulären Blutprodukten zur Transfusion (vom 18. August 2000) 2000
- 147 *Bordin JO, Heddle NM, Blajchman MA.* Biologic effects of leukocyte present in transfused cellular blood products. *Blood Rev.*; 1994 (84): 1703–1721
- 148 *Yen W-Y, Cai B, Zeng M et al.* Quantification of the endothelial surface glycocalyx on rat and mouse blood vessels. *Microvasc Res* 2012; 83 (3): 337–346
- 149 *Squire JM, Chew M, Nneji G et al.* Quasi-periodic substructure in the microvessel endothelial glycocalyx: A possible explanation for molecular filtering? *J Struct Biol* 2001; 136 (3): 239–255

- 150 *Palaiologou M, Delladetsima I, Tiniakos D.* CD138 (syndecan-1) expression in health and disease. *Histol Histopathol* 2014; 29 (2): 177–189
- 151 *Armstrong SE, Bell DR.* Relationship between lymph and tissue hyaluronan in skin and skeletal muscle. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 2002; 283 (6): H2485-94
- 152 *Back SA, Tuohy TMF, Chen H et al.* Hyaluronan accumulates in demyelinated lesions and inhibits oligodendrocyte progenitor maturation. *Nat Med* 2005; 11: 966 EP -
- 153 *Haserodt S, Aytakin M, Dweik RA.* A comparison of the sensitivity, specificity, and molecular weight accuracy of three different commercially available Hyaluronan ELISA-like assays. *Glycobiology* 2011; 21 (2): 175–183
- 154 *Lavoie A, Moore L, LeSage N et al.* The Injury Severity Score or the New Injury Severity Score for predicting intensive care unit admission and hospital length of stay? *Injury* 2005; 36 (4): 477–483
- 155 *Almahmoud K, Namas RA, Abdul-Malak O et al.* Impact of Injury Severity on Dynamic Inflammation Networks Following Blunt Trauma. *Shock* 2015
- 156 *Schluter PJ, Nathens A, Neal ML et al.* Trauma and Injury Severity Score (TRISS) coefficients 2009 revision. *J Trauma* 2010; 68 (4): 761–770
- 157 *Palmer C.* Major Trauma und the injury severity score - where should we set the bar? *Annual Proceedings / Association for the Advancement of Automotive Medicine* 2007; 51: 13–29
- 158 *Copes W.S., Champion H.R., Sacco W.J. et al.* The injury severity score revisited. *The Journal of Trauma* 1988; 28 (1): 69–77
- 159 *Rowell SE, Barbosa RR, Diggs BS et al.* Specific abbreviated injury scale values are responsible for the underestimation of mortality in penetrating trauma patients by the injury severity score. *J Trauma* 2011; 71 (2 Suppl 3): 8
- 160 *Tscherne H, Regel G, Sturm JA et al.* Schweregrad und Prioritäten bei Mehrfachverletzungen. *Chirurg* 1987; 58: 631–640

- 161 *J C Marshall, D J Cook, N V Christou, G R Bernard, C L Sprung, W J Sibbald.* Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Critical care medicine* 1995; 23 (10): 1638–1652
- 162 *Sauaia A, Moore FA, Moore EE et al.* Early predictors of postinjury multiple organ failure. *Arch Surg* 1994; (129): 39–45
- 163 *Sauaia A, Moore EE, Johnson JL et al.* Temporal trends of postinjury multiple-organ failure. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery* 2014; 76 (3): 582–593
- 164 *Puskarich MA, Cornelius DC, Tharp J et al.* Plasma syndecan-1 levels identify a cohort of patients with severe sepsis at high risk for intubation after large-volume intravenous fluid resuscitation. *J Crit Care* 2016; 36: 125–129
- 165 *Holcomb JB, Tilley BC, Baraniuk S et al.* Transfusion of plasma, platelets, and red blood cells in a 1: 1:1 vs a 1:1:2 ratio and mortality in patients with severe trauma: the PROPPR randomized clinical trial. *JAMA* 2015; 313 (5): 471–482
- 166 *Miranda M, Balarini M, Caixeta D, Bouskela E.* Microcirculatory dysfunction in sepsis: Pathophysiology, clinical monitoring, and potential therapies; 2016
- 167 *Arulkumaran N, Deutschman CS, Pinsky MR et al.* MITOCHONDRIAL FUNCTION IN SEPSIS. *Shock* 2016; 45 (3): 271–281
- 168 *Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI.* The glycocalyx: A novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Crit Care* 2019; 23 (1): 16
- 169 *Zeng Y, Adamson RH, Curry F-RE et al.* Sphingosine-1-phosphate protects endothelial glycocalyx by inhibiting syndecan-1 shedding. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 2014; 306 (3): H363-H372
- 170 *Jacob M, Paul O, Mehringer L et al.* Albumin augmentation improves condition of guinea pig hearts after 4 hr of cold ischemia. *Transplantation* 2009; 87 (7): 956–965
- 171 *Aller M-A, Arias J-I, Alonso-Poza A et al.* A Review of metabolic staging in severely injured patients. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2010; 18 (1): 27
- 172 *B. S. Henry C, Duling B.* Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *The American journal of physiology*; DOI: 10.1152/ajpheart.1999.277.2.H508

- 173 *Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ et al.* The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat Med* 2012; 18 (8): 1217–1223
- 174 *Hiebert LM, Jaques LB.* The observation of heparin on endothelium after injection. *Thrombosis Research* 1976; 8 (2): 195–204
- 175 *Nieuwdorp M, Meuwese MC, Mooij HL et al.* Tumor necrosis factor- α inhibition protects against endotoxin-induced endothelial glycocalyx perturbation. *Atherosclerosis* 2009; 202 (1): 296–303

8 Danksagung

Als erstes möchte ich mich herzlichst bei meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Viktoria Bogner-Flatz für die Überlassung des Dissertationsthemas und die kontinuierliche sowie herzliche Betreuung und Unterstützung bedanken.

Ein besonderer Dank geht auch an Herrn Dr. med. Thomas Kusmenkov für die wissenschaftliche und fachliche Betreuung dieser Arbeit, insbesondere für die Unterstützung der Auswertung. Ebenso möchte ich Frau Dr. med. Mareen Braunstein für die Hilfsbereitschaft und das entgegengebrachte Engagement herzlich danken.

Des Weiteren gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. med. Thorsten Annecke für die wissenschaftliche Kooperation und die Zusammenarbeit mit dem anästhesiologischen Forschungslabor der LMU, insbesondere Frau Gabriele Gröger für die Durchführung der labortechnischen Untersuchungen.

Im Speziellen möchte ich meiner Co-Doktorandin Frau Dr. med. Livia Ocker für die unermüdliche und freundschaftliche Zusammenarbeit danken.

Abschließend gilt mein besonderer Dank meiner Schwester Christin und meinen Eltern Margarete und Josef Hiereth sowie meinem Ehemann Jens Frey für die bedingungslose Unterstützung sowohl im Studium als auch in der Erstellung dieser Arbeit.

9 Eidesstattliche Erklärung

Ich, Kathrin Irmgard Frey, geb. Hiereth, erkläre hiermit an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Serumkonzentrationen von Syndecan-1 und Hyaluronan bei polytraumatisierten Patienten in der frühen posttraumatischen Phase

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 05.06.2020

Kathrin Frey

Unterschrift